

Formulering av granulat med mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed

Hovudoppgåve i galenisk farmasi for grada cand.pharm.

Linda Salbu



Farmasøytisk seksjon

Farmasøytisk institutt

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet

Universitetet i Oslo

2004

FORORD

Denne hovudfagsoppgåva innan galenisk farmasi er utført ved Farmasøytisk seksjon, Farmasøytisk institutt, Universitetet i Oslo i perioden november 2003 til november 2004.

Takk til veileidar professor Sverre Arne Sande for nyttig veiledning i løpet av hovudfagsåret.

Takk også til avdelingsingeniør Helge R. Gundersen for opplæring og bruk av laboratorieutstyr, samt hjelp ved pc-problem.

Takk til ingeniør Tove Larsen for scanning av figurar som inngår i oppgåva.

Vil også takke stipendiat Marianne Hiorth for å ha vist interesse for oppgåva mi, sjølv om vi ikkje har jobba med same prosjekt.

Ynskjer og å få takke tilsette ved seksjonen for hyggjeleg samarbeid i dei periodane eg var lab.veileidar.

Takk til mi gode venninne Kjersti som eg har vore så heldig å få dele lab. og kontor med. Din omtanke og ditt gode humør har gjort godt under hovudfagsåret. Takk også til Vibeke og Kristin for god stemning på kontoret.

Vil også takke Anne, Astrid, Bente, Heidi og Karen for ei fin tid på ”lille lesesal” med mykje smil og latter. Kjem til å sakne dei artige lunchpausane vi har hatt saman. Og Astrid, takk for redigeringshjelp.

Til slutt vil eg få takke mamma og pappa for at dåke alltid har stilt opp for meg og vist interesse for det eg har halde på med.

Blindern, november 2004

Linda Salbu

SAMANDRAG

Den mekaniske styrken til eit granulat er ein viktig eigenskap når det gjeld den vidare behandlinga av granulatet. Enten granulatet skal fyllast i kapslar eller coatast, må det ha ein mekanisk styrke som tåler desse operasjonane. Coating i fluid bed er ein coatingprosess som stiller ekstra store krav til granulatet. I ein slik prosess gjennomgår granulatet ei røff behandling, og dette krev at granulatet har høg mekanisk styrke.

I denne oppgåva skulle det utviklast eit granulat med mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed. Det var også ynskjeleg å coate granulatet slik at ei tidskontrollert frisetjing kunne oppnåast. Preparatet skulle ha ei lagtid på tre timar og deretter ei lineær frisetjing av virkestoffet over tre timar.

Ved hjelp av eksperimentelt design og multivariat analyse, vart det utvikla eit granulat som hadde tilstrekkeleg mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed. Undervegs i arbeidet vart det funne ut at brotstyrken ikkje var ein eigna parameter for måling av den mekaniske styrken. Slitetapet derimot, viste seg å vere ein eigna parameter til dette føremålet. Det var ingen samanheng mellom slitetap og brotstyrke. Ucoata granulat hadde $T_{90\%} = 5$ minutt. Coatinga av granulatet gav derimot ikkje den ynskjelege frisetjingsprofilen. Enten hadde formuleringa inga lagtid, eller så var lagtida minst 6 timar. Frisetjingsprofilane viste også at frisetjingshastigheita var for låg, og at det skjedde ei ikkje-lineær frisetjing av virkestoffet. Dette viser at coatingprosessen må optimaliserast, og fleire *in vitro* frisetjingar må utførast.

INNHALDSLISLE

1	INNLEIING.....	1
1.1	BAKGRUNN	1
1.2	MÅLSETJING.....	1
2	FORKORTINGAR.....	2
3	TEORI.....	3
3.1	GRANULAT	3
3.1.1	Definisjonar.....	3
3.1.2	Kvifor granulering?	3
3.1.3	Granulat som legemiddelform	5
3.1.4	Hjelpestoff som inngår i granulat.....	5
3.1.5	Granuleringsmetodar	5
3.1.6	Bindingsmekanismar ved våtgranulering	7
3.1.7	Mekaniske eigenskapar.....	9
3.2	FYSIOLOGISKE FORHOLD I MAGE-TARMSYSTEMET	9
3.2.1	Hovudfunksjonane til mage, tynntarm og tjukktarm.....	9
3.2.2	Kva faktorar begrensar orale formuleringar med modifisert frisetjing?.....	10
3.2.3	Transitt-tider gjennom mage-tarmsystemet	10
3.2.4	pH-profil i gastrointestinaltrakta.....	12
3.3	COATING	13
3.3.1	Definisjon.....	13
3.3.2	Kvifor coate?	13
3.3.3	Ulike typar coating	14
3.3.4	Fluid bed apparatur.....	14
3.3.5	Coatingsamansetning	15
3.3.6	Kva skjer ved lagging av filmar?	17
3.4	FORMULERINGER MED MODIFISERT FRISSETJING	19
3.4.1	Definisjonar.....	19
3.4.2	SU- og MU-formuleringar.....	19
3.4.3	Kvifor bruke formuleringar med modifisert frisetjing?	20
3.5	STATISTISK FORSØKSPLANLEGGING	20
3.5.1	Kvifor utføre statistisk forsøksplanlegging?	20
3.5.2	Ulike typar eksperimentelle design/forsøksdesign.....	21
3.5.3	Senterpunkt.....	22
3.6	MULTIVARIAT ANALYSE	23
3.6.1	Kalibrering og validering	23
3.6.2	PLS ("Partial least squares regression").....	24
3.6.3	Andre analysemetodar.....	26
4	MATERIALE OG METODE.....	27
4.1	MATERIALE	27
4.2	LØYSNINGAR.....	29
4.2.1	0.1 M saltsyre	29
4.2.2	0.2 M natriumfosfat	29
4.2.3	2 M saltsyre	29
4.2.4	2 M natriumhydroksid.....	29
4.3	METODAR	30
4.3.1	Pulverblanding	30
4.3.2	Granulering med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska	30
4.3.3	Granulering med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska	30
4.3.4	Tørking av granulat	31
4.3.5	Analyse av storleiksfordelinga.....	31
4.3.6	Brotstyrke.....	31
4.3.7	Slitetap i fluid bed.....	32

4.3.8	<i>Tillaging av coatingvæske</i>	32
4.3.9	<i>Fluid bed coating</i>	32
4.3.10	<i>Curing av granulat</i>	33
4.3.11	<i>Bestemmelse av vektauking av granulat etter coating</i>	33
4.3.12	<i>Fylling av coata granulat i kapslar</i>	33
4.3.13	<i>In vitro frisetjing</i>	33
4.3.14	<i>Bestemmelse av lagtid</i>	36
4.3.15	<i>Bestemmelse av tida for fullstendig frisetjing</i>	36
5	EKSPERIMENTELT	37
5.1	GRANULAT MED GELATIN SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	37
5.2	GRANULAT MED HPMC SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	38
5.2.1	<i>Screening</i>	38
5.2.2	<i>Fullfaktordesign</i>	39
5.2.3	<i>Måling av slitetap</i>	40
5.3	FRISJETJING	40
5.3.1	<i>Fluid bed coating av granulatet</i>	40
5.3.2	<i>Måling av frisetjingshastighet</i>	41
6	RESULTAT	42
6.1	GRANULAT MED GELATIN SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	42
6.2	GRANULAT MED HPMC SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	44
6.2.1	<i>Screening</i>	44
6.2.2	<i>Fullfaktordesign</i>	47
6.2.3	<i>Måling av slitetap</i>	48
6.3	FRISJETJING	53
7	DISKUSJON	55
7.1	GRANULAT MED GELATIN SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	55
7.2	GRANULAT MED HPMC SOM BINDEMIDDEL I GRANULERINGSVÆSKA	56
7.2.1	<i>Screening</i>	56
7.2.2	<i>Fullfaktordesign</i>	57
7.2.3	<i>Måling av slitetap</i>	58
7.3	FRISJETJING	59
8	KONKLUSJON	61
9	REFERANSELISTE	62
10	VEDLEGG	67

1 INNLEIING

1.1 Bakgrunn

I hovudoppgåva til Bergseng frå 2002 med tittelen ”Formulering av et hydrokortisonpreparat med tids-kontrollert frisetjing” [1], vart det laga tablettar og pellets som seinare vart coata med ulike vokstypar. Utgangspunktet var at preparatet skulle gje ei meir fysiologisk retta substitusjonsbehandling for pasientar med binyrebarksvikt. Ein upublisert forstudie sette derimot spørsmålsteikn ved absorpsjonsgrada av hydrokortison nedover i tarmen. På bakgrunn av dette vart det bestemt at preparatet burde ha ei lagtid på tre timar etterfølgt av tre timar lineær frisetjing (0.ordens frisetjing). Resultata til Bergseng viste at tablettar gav ei pH-avhengig frisetjing. Det vart ikkje avklara om dette gjaldt for kjernen, coatinga eller begge delar. Vidare vart det utvikla pellets, men desse kjernane hadde for sein frisetjing av virkestoffet. Difor vart det beslutta at eg skulle jobbe vidare med granulat, og nytte ein annan type coating.

1.2 Målsetjing

Målet med denne oppgåva er å utvikle eit granulat med mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed. Vidare må det undersøkjast kva parametrar som er representative for måling av den mekaniske styrken til eit granulat. I tillegg skal preparatet coatast slik at virkestoffet får ei tids-kontrollert frisetjing med tre timar lagtid etterfølgt av tre timar lineær frisetjing (0.ordens frisetjing).

2 FORKORTINGAR

HPMC	Hydroksypropylmetylcellulose
MCC	Microcrystalline cellulose
MLR	Multiple linear regression
MMC	Migrating myoelectric complex
MU	Multiple unit
PCA	Principal component analysis
PLS	Partial least squares regression
SSG	Sodium starch glycolate / Natriumstivelsesglykolat
SU	Single unit
T _{90%}	Tid for fullstendig frisetjing
T _{lagtid}	Lagtid
TEC	Trietylcitrat
X-Carm	Croscarmellose sodium / Natriumcrosscarmellose

3 TEORI

3.1 Granulat

3.1.1 Definisjonar

Granulat er faste preparat beståande av korn med mest mogleg einsarta storleik, vanlegvis innanfor storleiksområdet 0.1-2.0 mm. Dei vert oftast administrert oralt, enten direkte eller etter oppløysning, eventuelt utrøring. Granulat inneheld legemiddel som raskt vert frigjort for å bli absorbert frå magesekk og/eller tarm, eller til lokalvirkning i magesekk og/eller tarm. Vanlegvis vert granulat dosert etter volum [2-4].

Utgangspunktet er ei homogen pulverblanding der dei primære pulverpartiklane vert aggregert for å lage større multipartikulære einingar, såkalla *granulatkorn*.

Granulering er eit uttrykk for framstilling av granulat.

Kuleforma granulatkorn med svært einsarta storleik, vert kalla *pellets*. Pellets er normalt innanfor storleiksområdet 0.3-2.0 mm [4].

Uttrykket *pelletering* vert brukt om granuleringsmetoden som resulterer i pellets [4].

3.1.2 Kvifor granulering?

Dei vanlegaste føremåla med granulering er å:

- Forhindre segregering
 - Segregering skuldast skilnader i storleik og/eller tettleik mellom dei ulike komponentane i pulverblandinga, og er kjenneteikna ved at dei minste partiklane legg seg på botnen, medan dei største partiklane vil vere på toppen av pulverblandinga. Ved å forhindre segregering, er det større sannsyn for at individuelle granulatkorn har korrekt samansetning. Sjølv om komponentane i pulverblandinga ikkje segregerar, kan det vere fare for segregering om storleiksfordelinga til

granulatkorna er for vid. I eit slikt tilfelle vil det vere granulatkorna sjølv, som segregerar. Dette vil gje ei ujamn fylling i til dømes kapsel- og tablettmaskiner, og resulterer i stor vektvariasjon fordi slike maskiner blir fylt etter volum [5].

- Forbetre pulverflyten
 - Store, tunge og regulære partiklar vil gje god flyt i motsetning til pulver som kan ha kohesive eigenskapar fordi partiklane er små, eller har ei overflate som favoriserer kohesjon [5].
- Forbetre pulveret sine kompakteringseigenskapar
 - Bindemiddelet vil vere distribuert i granulatkorna, og ved at det skjer ein løysemiddelmigrasjon, vil det komme meir bindemiddel på overflata. Dette vil gjere kompakteringa lettare, og resultatet vil vere tablettar med høg mekanisk styrke [5].
- Redusere støvproblem
 - Ved å lage granulat i staden for å ha stoffa i pulverform, vil det i ein produksjonsprosess bli generert mindre støv. Dette er gunstig for personalet som er i produksjonslokalet, fordi støvet representerar ein helserisiko. I tillegg kan krysskontaminasjon unngåast, dvs. ein hindrar at produkt vert forureina med framande stoff [4].
- Oppnå fordelar ved lagring
 - Dersom hygroskopiske stoff vert lagra som pulver, er det sannsynleg at partiklane vil klistre seg saman. Resultatet vil vere at pulveret vert laga om til ein hard klump. Granulering reduserar dette problemet. Granulatkorna vil absorbere fukt, og oppretthalde god pulverflyt på grunn av storleiken [5].
 - Granulat har betre haldbarheit enn pulver, fordi overflata til granulatet er mindre enn for pulveret, og såleis vil reaksjonshastigheita med oksygenet i lufta bli mindre [6].

I tillegg kan granulering vere ein måte å endre oppløysningshastigheita til eit stoff på. Hydrofobe legemiddel kan bli hydrofiliserte, slik at dei lettare vert fukta og raskare går i oppløysning. Granulering kan også vere ein metode for å oppnå forsinka utløysning av legemiddelet, og er aktuelt for depotpreparat [4].

3.1.3 Granulat som legemiddelform

Som ferdig legemiddelform førekjem granulat som granulat til mikstur, granulat for direkte inntak og brusegranulat. Antibiotika vert formulert som granulat til mikstur, med hensyn på forlenga haldbarheit. Riktig mengd vatn vert tilsett ved utlevering frå apoteket. Granulat for direkte inntak omfattar blant anna ulike vegetabilske bulklaksativ. Brusegranulat vert løyst i vatn under utvikling av karbondioksid [6]. Likevel er nok granulering mest brukt i samband med framstilling av tablettar i den farmasøytiske industrien. Fordelane ved å granulere før tabletering, er nemnt under 3.1.2.

3.1.4 Hjelpstoff som inngår i granulat

I tillegg til virkestoffet, kan det vere naudsynt med tilsetjing av eit fyllmiddel slik at ein dose av granulatet vert mogleg å handtere for brukaren. Disintegrantar vert tilsett når det er ynskjeleg med eit granulat som straks disintegrerar etter oralt inntak. Dersom det blir utført tørrgranulering, kan det vere aktuelt å tilsetje eit bindemiddel i form av eit tørrstoff [5]. I granulat til mikstur inngår det i tillegg diverse sukker og smakstilsetjingar for å maskere vond smak. Brusegranulat inneheld vinsyre og sitronsyre saman med natriumbikarbonat, for å oppnå ynskjelege eigenskapar [6].

3.1.5 Granuleringsmetodar

- Våtgranulering
 - Ved tradisjonell våtgranulering vert tørrstoffa først fukta med ei passande mengd granuleringsvæske. Deretter vert den fuktige massen pressa gjennom ei sikt. Etter tørking vert granulatet sikta for å løyse opp agglomerat [4].
 - I den farmasøytiske industrien vert det nytta ulike våt-granulatorar i form av "shear-", "high speed-", "fluidized bed-" og rotorgranulatorar [5,7]. I tillegg finst det spray-tørkarar der granulat Korn vert laga ved tørking av forstøva væskedråpar innehaldande legemiddel og hjelpstoff i oppløyst eller suspendert tilstand [4]. Kva granulator som vert brukt, heng blant anna saman med kva innhaldsstoff som skal granulerast, og kor lang tid granuleringa kan ta. Granulering i fluid bed er ein rask prosess, og beskyttar i tillegg personalet mot helseskadeleg

støv, fordi granulering og tørking skjer i ein prosess [7,8]. Pellets vert framstilt ved hjelp av ein ekstruder og sfæronizer [4,9].

- Granuleringsvæska må vere flyktig, slik at den vert fjerna under tørkeprosessen. I tillegg må den ikkje vere toksisk. Vanlegvis vert vatn, etanol eller isopropanol nytta, enten åleine eller med eit bindemiddel oppløyst eller svelgt i væska [5]. Gelatin og HPMC vert ofte nytta som bindemiddel.
- Under våtgranuleringa vil granuleringsvæska fordele seg som ein film rundt og mellom partiklane [5].

- Tørrgranulering

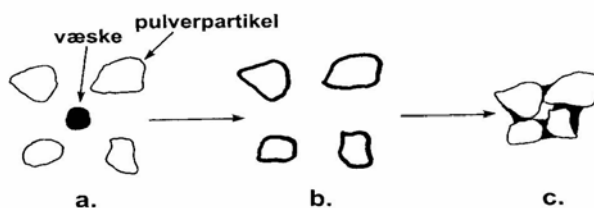
- Tørrgranulering føregår ved at partiklane aggregerar ved bruk av høgt trykk. Dette skjer enten ved "slugging" som resulterer i tablettar, eller ved "roller compaction" der pulveret vert komprimert ved hjelp av to valsar. Deretter vert materialet brote ned til ynskjeleg partikkelstorleik, før det til slutt vert sikta [5].
- Denne granuleringsmetoden er eigna for fukt-labile substansar, samt substansar som ikkje tåler den auka temperaturen under tørking. I tillegg må enten legemiddelet eller hjelpestoffa ha kohesive eigenskapar for at tørrgranuleringa skal vere mogleg å utføre [10]. Tørrgranulering kan også vere aktuelt for substansar som vert dårleg komprimert etter våtgranulering [5].

- Smeltegranulering

- Smeltegranulering er eit alternativ til våtgranulering. Her blir det brukt eit bindemiddel, t.d. ein polyetylenglykol eller ein vokstype, som er fast ved romtemperatur, men som smeltar ved ein relativt låg temperatur, normalt mellom 50°C og 80°C. Bindemiddelet vert smelta etter oppvarming i granulatore. Deretter verkar det smelta bindemiddelet som granuleringsvæske. Etter at den fukta massen er ferdigbehandla i granulatore, vert den avkjølt til romtemperatur, og resultatet vert tørre granulat Korn [4].

3.1.6 Bindingsmekanismer ved våtgranulering

For at det skal bli laga granulat, må bindingane som vert laga mellom primærpartiklane vere sterke nok til å motstå påkjenningane i den vidare handteringa [5]. Når granuleringsvæske vert tilsett, vil den t.d. ved hjelp av mekanisk omrøring, fordele seg på overflata til pulverpartiklane (sjå figur 3.1). Deretter vil dei fukta partiklane bli bunde saman til små agglomerat ved hjelp av væskebindingar [4].

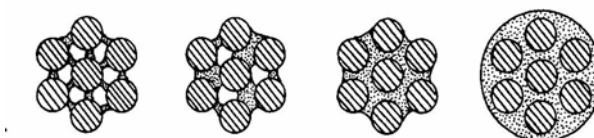


Figur 3.1 Laging av agglomerat ved fukting av pulverpartiklar. a. Ein væskedråpe vert forstøva på pulverpartiklane. b. Væska vert fordelt på overflata til partiklane. c. Partiklane vert bunde saman av væskebindingar [4].

Metningsgrada til agglomerat vert definert som den delen av holrommet mellom partiklane som er fylt med væske. Ei metningsgrad på 100 % tyder at alle porar i agglomeratet er fylt med væske [4].

Væskebindingane mellom faste partiklar vert inndelt i 4 fasar (sjå figur 3.2) [4]:

- ”Pendular”- fase
- ”Funicular”- fase
- Kapillærfase
- Dråpefase



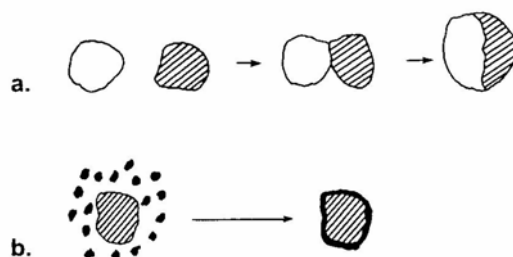
Figur 3.2 Dei ulike fasane i væskebindingane mellom faste partiklar. Frå venstre ”pendular”-, ”funicular”-, kapillær- og dråpefase [4].

Ved å auke mengda av granuleringsvæske, vil metningsgrada auke, og bindingstilstanden går frå ”pendular”- via ”funicular”- til kapillærfasen [4].

I den første fasen vil fuktigheitsnivået vere lågt, og her vil adhesjon oppstå som ei følgje av overflatespenningar [5].

I kapillærfasen er metningsgrada nær 100 %, noko som indikerar at det vil vere væske tilstades på overflata til agglomeratet. Dermed aukar deformerbarheita i overflata så mykje, at det ved eit samanstøt mellom to agglomerat kan lagast eit større agglomerat ved koalescens (sjå figur 3.3). Kor vidt eit samanstøt mellom to eller fleire agglomerat fører til koalescens, vil vere avhengig av om bindingskreftene i kontaktflata er sterke nok til å motstå mekaniske krefter som prøver å skilje agglomerata. I kapillærfasen er det kapillærkrefter som verkar. Denne fasen kan også oppnåast ved tilsetjing av ei mindre mengd granuleringsvæske, gitt at massen vert mekanisk bearbeida i etterkant. Mekanisk bearbeiding under granuleringsprosessen, fører til tettare sampanpakking av partiklane i det våte agglomeratet. Dette vil redusere det samla porevolumet i agglomeratet, og såleis vil metningsgrada auke. Metningsgrada er dermed avhengig av både væskemengd og kompaktering [4,5].

I tillegg til koalescens, kan agglomeratvekst skje ved at primærpartiklar avleirar seg på agglomerata (sjå figur 3.3) [4].



Figur 3.3 Agglomeratvekst ved a. koalescens, b. avleiring av primærpartiklar på agglomerat [4]

”Funicular”-fase er ein mellomtilstand mellom ”pendular”- og kapillærfase, og er kjenneteikna av ei sterkare tiltrekking mellom partiklane enn i den første fasen (sjå figur 3.2). Brotstyrken til eit fuktig granulat aukar om lag 3 gongar frå ”pendular”- til kapillærfase [5].

Når metningsgrada overstig 100 %, vil partiklane bli inneslutta i ein dråpe (sjå figur 3.2). Dette er ikkje ein ynskjeleg prosess ved dei fleste våtgranuleringsmetodar, då det

er eit uttrykk for overfukting. Massen vil bli deigaktig og bestå av store klumpar. Unntaket er våtgranulering i spray-tørkarar, der denne bindingstilstanden er ynskjeleg [4].

Under tørkeprosessen vil løysningsmiddelet fordampe. Bindemiddelet vil utkrystallisere slik at det vert laga faste bruer mellom partiklane. Dette vil vere med på å halde partiklane saman. Desse faststoffbindingane kan også heilt eller delvis bestå av virkestoff eller hjelpestoff, som løyser seg opp i granuleringsvæska og seinare utkrystalliserar under tørkinga [4].

3.1.7 Mekaniske eigenskapar

Granulatet sine mekaniske eigenskapar kan målast ved brotstyrke- og slitetapsmålingar (sjå 4.3.6 og 4.3.7). Ved coating av granulat i fluid bed (sjå 3.3.4), er det svært viktig at kvart einskilt granulatkorn har høg nok mekanisk styrke til å tåle den røffe behandlinga under coatingprosessen.

3.2 Fysiologiske forhold i mage-tarmsystemet

3.2.1 Hovudfunksjonane til mage, tynntarm og tjukktarm

Legemiddelabsorpsjonen skjer hovudsakleg i tynntarmen. Dette skuldast det store overflatearealet på 4500 m². Til samanlikning er overflatearealet i henholdsvis mage og tjukktarm 0.1-0.2 m² og 0.5-1.0 m² [11]. Magen si primære oppgåve er å midlertidig lagre mat og delvis fordøye den, for deretter å sende den vidare til duodenum, dei første 20-30 cm av tynntarmen. Før maten når duodenum, vert den laga om til kymus som blant anna består av delvis nedbroten mat, spytt og slim. Dette gjev betre kontakt med mucusmembranen som kler innsida av tarmen, og såleis vert næringsstoff og legemiddel lettare absorbert i tynntarmen. I tillegg hindrar magen at toksiske agens når fram til tynntarmen, ved først å skilje ut magesyre som har ein bakteriestatisk verknad og deretter ved å stimulere oppkastrefleksen. Ulike enzym vert også produsert i magen. [12]. I tynntarmen vert maten blanda med enzymba for å gjere fordøyinga lettare. For at absorpsjonen skal bli tilfredsstillande, vert kymus ytterlegare blanda med sekret frå tynntarmen. Uabsorbert materiale vert sendt vidare til tjukktarmen [13]. Her vert vatn og elektrolyttar reopptatt, og tarminnhaldet får ein

fastare konsistens. Tjukktarmen lagrar så innhaldet fram til neste avføring finn stad [14].

3.2.2 Kva faktorar begrensar orale formuleringar med modifisert frisetjing?

Orale formuleringar med modifisert frisetjing vert begrensa av transitt-tid og pH gjennom gastrointestinaltrakta. Transitt-tida i gastrointestinaltrakta avgjer den tida som er tilgjengeleg for legemiddelfrisetjing frå orale system med modifisert frisetjing. Ved å forlengje transitt-tida for ei formulering, kan doseringsintervallet forlengjast og compliance hjå pasienten vil auke.

Transitt-tida kan til dømes aukast ved bruk av:

- Bioadhesive frisetjingssystem som adherast til slimhinner [11,15]
- Frisetjingssystem som aukar i storleik for å forsinke passasjen gjennom pylorus [15]
- Koadministrasjon med eit legemiddel som reduserar motiliteten i gastrointestinaltrakta [11].

3.2.3 Transitt-tider gjennom mage-tarmsystemet

Transitt-tida gjennom gastrointestinaltrakta varierar frå person til person, og kan variere frå 8-62 timar for eit ufordøyeleg materiale. Gjennomsnittleg vert transitt-tida gjennom gastrointestinaltrakta rekna som 24 timar, og det er dette det vert tatt utgangspunkt i ved formulering av orale preparat med modifisert frisetjing [11]. Transitt-tida vil vere avhengig av kva slags formulering som vert tatt, og om den vert tatt i samband med måltid eller ei. Storleiken og samansetjinga av måltidet vil også påverke transitt-tida. I tillegg er alder, kjønn, kroppsstilling, fysisk aktivitetsnivå, stress og syre-pepsinsekresjon faktorar som påverkar gastrisk tømmingshastigheit. Kvinner ser ut til å ha lengre retensjonstider enn menn, og passasjen gjennom pylorus ser ut til å minke med aukande alder. Også inntak av alkohol, sigarettøyking og bruk av legemiddel påverkar transitt-tida [15].

For orale formuleringar med modifisert frisetjing, er det akseptabelt med ei frisetjingstid på maksimalt 6-8 timar. Legemiddelet vil då bli absorbert i tynntarmen.

Formuleringar som set fri legemiddelet over 12 timar, er avhengig av at legemiddelet vert absorbert i tjukktarmen og at bakteriane der ikkje degraderar legemiddelet [16].

- Magen

Magen oppfører seg på to ulike måtar avhengig av om den inneheld mat eller er tom. Under eit måltid vert peristaltiske kontraksjonar sett i gang, og innhaldet i magen vert flytta mot pylorus. Væske og små partiklar vil passere gjennom ein delvis lukka pylorus, medan store partiklar av ikkje-fordøyeleg materiale vert verande att i magen under heile denne perioden. Mot slutten av fordøyinga går motiliteten over i ein ny periode kjenneteikna av ein syklisk fysiologisk mekanisme kalla "migrating myoelectric complex" (MMC). I denne perioden inneheld magen spytt, slim og cellerestar. I tillegg kan det liggje att store partiklar av ikkje-fordøyeleg materiale frå forrige måltid. Innhaldet i magen vil bli tømt av MMC som normalt vert inndelt i følgjande fire fasar [11,12,15,17]:

Fase 1: Periode utan kontraksjonar.

Fase 2: Periode med kontraksjonar som gradvis aukar.

Fase 3: Kort periode med kraftige kontraksjonar som varer frå 5-15 minutt.

Magen vert fullstendig tømt gjennom ein open pylorus, og ofte vert desse kontraksjonane kalla "housekeeper waves".

Fase 4: Kort overgangsperiode mellom den intense aktiviteten i fase 3 og inaktiviteten i fase 1.

Dei fire fasane utgjer ein syklus. Normalt varer ein syklus i om lag 2 timar.

Fase 1-fase 4 migrerar distalt frå magen til terminal ileum. Under eit måltid vert syklusen avbroten, og erstatta med dei peristaltiske kontraksjonane. Ved eit normalt måltid vert aktiviteten forstyrra i 3-4 timar [11,12,15,17].

Transitt-tida vert påverka av storleiken til legemiddelformuleringa, og om den vert administrert i samband med måltid eller ei. Tablettar ("Single unit dosage forms", SU-formuleringar) vert behandla som ufordøyeleg materiale, og vert tømt med fase 3 kontraksjonane i MMC [12,17]. Etter eit lett måltid vil tømninga skje etter 2-3 timar, medan formuleringa kan forbli i magen i opptil 12 timar ved inntak av eit stort måltid [12]. Granulat eller pellets i ein hard gelatinkapsel

(“Multiple unit dosage forms”, MU-formuleringar), ser ut til å ha transitt-tider som i lita grad vert påverka av måltid. Partiklar som er mindre enn 1 mm kan passere gjennom ein lukka pylorus. Dette medfører ei gradvis tømning av subeiningane, og sikrar at dei vert dispergert i tynntarmen. Slik vert også risikoen for irritasjon av slimhinnene redusert. Ved administrasjon til ein fastande mage, vil dispergeringa av subeiningane vere avgrensa, og det skjer ei bolustømning av materialet [17]. Tømmingshastigheita i magen er raskare for individ på fastande mage, enn for individ som har inntatt eit stort måltid. Den gastrointestinale transitt-tida for både SU- og MU-formuleringar har relativt store inter- og intraindividuelle variasjonar [18].

- Tynntarmen

I tynntarmen finst det to motilitetsmønster avhengig av matinntak. Etter eit måltid er aktiviteten karakterisert av tilfeldige segmentale og peristaltiske kontraksjonar. Det viser seg likevel at det skjer flest segmentale kontraksjonar. I den fastande perioden tek MMC over [13]. Transitt-tida gjennom tynntarmen er om lag 4 timar, og er relativt konstant [11,17]. Type formulering og om den vert tatt i samband med måltid eller ei, ser ikkje ut til å påverke transitt-tida gjennom tynntarmen. Heller ikkje fysisk aktivitetsnivå endrar transitt-tida [17].

- Tjukktarmen

I tjukktarmen dominerar tre motilitetsmønster. Segmentale kontraksjonar blandar innhaldet, peristaltiske kontraksjonar fører innhaldet i anal retning, medan massive kontraksjonar tømmer tjukktarmen. Transitt-tida gjennom tjukktarmen varierar frå 20-30 timar, sjølv om transitt-tider frå nokre få timar til meir enn to dagar har blitt observert [19]. Måltid, diettsamansetning, sjukdom i tjukktarmen og type legemiddelformulering er faktorar som påverkar transitt-tida [20]. I tillegg kan menstruasjonssyklus og graviditet ha innverknad på transitt-tida, fordi endringar i progesteronnivået i serum påverkar motiliteten i tjukktarmen [14].

3.2.4 pH-profil i gastrointestinaltrakta

pH varierar nedover i gastrointestinaltrakta. I magen varierar pH frå 1.0-5.0 [11], avhengig av syresekretjonen og innhaldet i magen. pH i tynntarmen avgjer grada av

ionisering, og dermed kor effektivt absorpsjonen av legemiddelet blir. I duodenum er pH mellom 4.6-6.0, medan nedover til jejunum vil pH auke til om lag 8. Tjukkarmen har ein pH som varierar frå 5.0-7.0 [11].

3.3 Coating

3.3.1 Definisjon

Coating er ein prosess der ein kjerne, til dømes eit granulat Korn, ein pellet, ein tablett eller ein kapsel vert overtrekt med ei coatingvæske.

3.3.2 Kvifor coate?

Det finst mange grunnar for å coate ein kjerne. Vanlegvis vert coating utført for å [21,22]:

- Beskytte preparatet mot nedbrytning som følgje av lys-, luft- eller fuktigheitseksposering. Dvs. den fysiske og kjemiske stabiliteten til preparatet vert forbetra.
- Oppnå syreressistente formuleringar. Virkestoffet vert beskytta mot det sure miljøet i magen, på same tid som coatinga kan hindre biverknader av virkestoffet.
- Oppnå formuleringar med depoteffekt. Dette kan ha terapeutiske fordelar og auke pasient compliance.
- Maskere ubehageleg smak eller lukt av preparatet.
- Hindre uønska lokalverknad i munnhole og svelg. Dette gjeld til dømes for antibiotika.
- Lette svelging av preparatet.
- Lette identifikasjonen av produktet, til dømes ved tilsetjing av fargestoff til coatingvæska.
- Forbetre utsjånaden til produktet.
- Forbetre den mekaniske styrken til preparatet. Dette er naudsynt i samband pakking og transport av det ferdige produktet.
- Redusere faren for krysskontaminasjon under produksjonen. Coatinga hindrar at støv slepp ut frå kjernen.

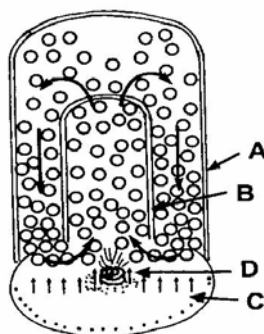
3.3.3 Ulike typar coating

Det finst ulike typar coating: Filmcoating, sukkerdrasjering, presscoating og smeltecoating [21,22]. Tradisjonelt har sukkerdrasjering i konvensjonelle kjelar vore mest nytta, men i dag vert dei fleste preparat filmcoata i fluid bed apparatur eller perforerte kjelar med høg tørkekapasitet. Filmcoating har eit breiare bruksområde, er prosessmessig enklare og raskare, og gjer det mogleg å modifisere frisetjingshastigheita til virkestoffet [21]. Presscoating vert brukt for fuktlabile kjernar og for å skilje inkompatible virkestoff. Prosessen vert utført i spesielle tablettmaskiner [22]. Smeltecoating skjer ved hjelp av fluidiseringsutstyr, og sidan det ikkje er noko oppløysingsmiddel som skal borttørrest, vert prosesstida kort [21].

3.3.4 Fluid bed apparatur

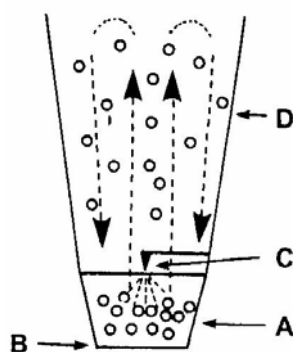
Filmcoating ved fluidisering vil normalt gje eit jamnt dekke på overflata av kjernen. Dette skuldast at kjernane er i konstant rørsle og i nær kontakt med forstøvingszone og tørkeluft. Tørkekapasiteten er svært stor. Fluidiseringsteknikken er veleigna til filmcoating med coatingvæsker som inneheld enten vasshaldige eller organiske væsker. Prosesstida er kort på grunn av den høge tørkekapasiteten [21].

Ved botnspraying er det vanleg å nytte ein Wursterinnsats (sjå figur 3.4). Denne består av eit kammer med eit innvendig, sylindrerforma røyr. Fluidiseringsbotnplata har dysa plassert i midten. Kjernane vert fluidisert av ein straum av varm luft, slik at dei er i konstant rørsle. Rørsla vert styrt av at hola i botnplata, og dermed lufthastigheita, er størst i midten. Dermed vil kjernane bli akselerert forbi forstøvingssona og vandre opp i midten av det indre røyrret, før dei fell ned langs kanten av det ytre kammeret, for deretter igjen å komme inn i luftstraumen i botnen av kammeret. Slik oppstår det ei syklisk rørsle av kjernane. Storleiken på hola i botnplata, mengde luft som kjem inn, og avstanden mellom det indre røyrret og botnplata, er faktorar som avgjer rørsla til kjernane i ein fluid bed [21,23].



Figur 3.4 Wursterinnsats med A: Ytre kammer, B: Indre røyr, C: Perforert botnplate og D: Dyse [21].

Det kan også utførast toppspraying, men då utan ein Wursterinnsats. I eit slikt tilfelle, vil dysa vere plassert over materialbeholdaren, i det såkalla ekspansjonskammeret. Kjernane vert akselerert oppover frå botnplate av fluidiseringslufta, og coatingvæska vert forstøva på overflata til kjernane, i det dei passerar forstøvingssona. I ekspansjonskammeret vert hastigheita til kjernane redusert, fordi det auka tverrsnittarealet set ned lufthastigheita, og partiklane fell attende mot botnen og gjentek rørlemønsteret (sjå figur 3.5) [21].



Figur 3.5 Apparaturl ved toppspraying. A: Materialbeholdar, B: Perforert botnplate, C: Dyse og D: Ekspansjonskammer [21].

3.3.5 Coatingsamansetning

Coatingvæska inneheld vanlegvis ein eller fleire polymerar, hjelpestoff og løysningsmiddel. Hjelpestoffa kan til dømes vere surfaktantar, "antitacking agents", mjukgjerarar og fargestoff [22,24]. Løysningsmiddelet kan vere organisk eller vasshaldig. Dette fordampar under coatingprosessen. Tidlegare vart organiske

løsningsmiddel mest brukt, men fordi desse stoffa er brannfarlege, eksplosive, lite miljøvennlege og i tillegg utgjør ein helserisiko for personalet, er det i dag vanlegare å nytte vasshaldige løysningar [22]. Organiske løsningsmiddel vert berre brukt i naudstilfelle, til dømes om polymeren ikkje er løseleg i vatn, og det er ynskjeleg med ein løysning. Som eit alternativ til løysningar, kan det lagast vasshaldige dispersjonar av ikkje-vassløselege polymerar. Ein polymerdispersjon der partiklane er i storleiksområdet 10-1000 nm, vert kalla latexdispersjon. Slike dispersjonar har låg viskositet sjølv ved eit høgt innhald av fast stoff, men er likevel fysisk stabile mot sedimentasjon på grunn av liten partikkelstorleik [21].

Korleis virkestoffet skal frisetjast, er avgjerande for val av polymer. Polymeren kan vere lettløseleg, tungtløseleg eller løseleg ved ein viss pH-verdi [25]. Ofte vert Eudragit[®] RS 30D nytta for å forseinke frisetjinga. Denne polymeren er eit akrylatderivat (Poly (etylakrylat, metylmetakrylat, trimetylammoniummetylmakrylat klorid) med eit lågt innhald av positivt ladde kvartære ammoniumgrupper [26,27]. Den er ikkje løseleg i vatn, og vert brukt som dispers fase i ein dispersjon. Sidan polymeren inneheld få kvartære ammoniumgrupper (molart forhold 1 : 40, kvartære ammoniumgrupper : nøytrale estergrupper), vil filmar av Eudragit[®] RS 30D i lita grad svelle. I tillegg vil filmen vere lite permeabel for vatn og oppløyst virkestoff. Ved å ha ein jamn film med ein viss tjukkleik på filmlaget, vil det vere mogleg å senke diffusjonen av oppløyst virkestoff. Eudragit[®] RS 30D vert også klassifisert som ein pH-uavhengig polymer. Eudragit[®] L og Eudragit[®] S er døme på pH-avhengige polymerar som blant anna vert brukt for å beskytte virkestoffet mot magesyre [28].

Mjukgjerarar vert tilsett coatingvæska for å [22,24]:

- Gjere filmane mindre sprø
- Endre permeabiliteten til legemiddelsubstansen
- Leggje forholda til rette for filmlaging ved bruk av vasshaldige polymerdispersjonar

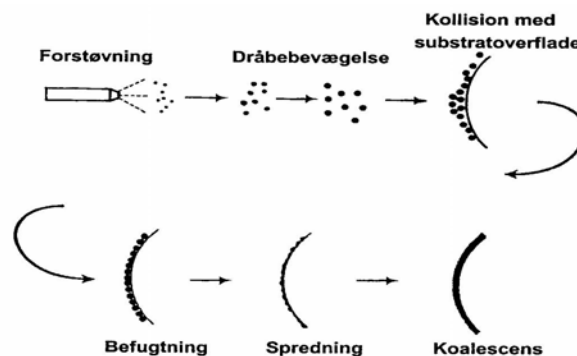
Ein termoplastisk polymer er karakterisert ved ein glastransisjonstemperatur, T_g . Ved temperaturar under T_g er polymeren hard og skjør, medan den vert blaut og elastisk

ved temperaturar over T_g . Ein hard og skjør film aukar risikoen for sprekkar i filmen. Polymerane som vert brukt ved filmcoating, har normalt ein T_g som er høgare enn produkttemperaturen under coatingprosessen. For at filmen skal bli blaut og fleksibel, må T_g reduserast [21]. Det er kjent at bruk av mjukgjerarar reduserar dei intermolekylære kreftene mellom polymerkjedane, og såleis reduserar T_g , brotstyrken og den minimale filmlagingstemperaturen til filmen [29]. Filmlaging kan berre skje ved temperaturar over ein bestemt temperatur, den minimale filmlagingstemperaturen. I praksis bør produkttemperaturen vere 10-20 °C over denne temperaturen for å oppnå ein optimal film [21]. Ved å tilsetje ein mjukgjerar, vil altså temperaturen som trengst ved filmcoatinga bli redusert [29]. Trietylцитrat (TEC) vert ofte brukt som mjukgjerar. Molekylformelen er $C_{12}H_{20}O_7$ [30]. Stoffet inneheld tre etylesterar og ei hydroksylgruppe, og vert rekna som ein hydrofil mjukgjerar. Kva mjukgjerar som vert valt, heng blant anna saman med kor effektiv mjukgjeraren er for den aktuelle polymeren, og om mjukgjeraren er kompatibel med alle innhaldsstoffa i coatingvæska [29]. Mjukgjeraren har også innverknad på frisetjingsprofilen til ein legemiddelsubstans [24].

For å hindre at kjernane klistrar seg saman, er det vanleg å tilsetje ”antitacking agents”. Talkum er eit slikt stoff [26].

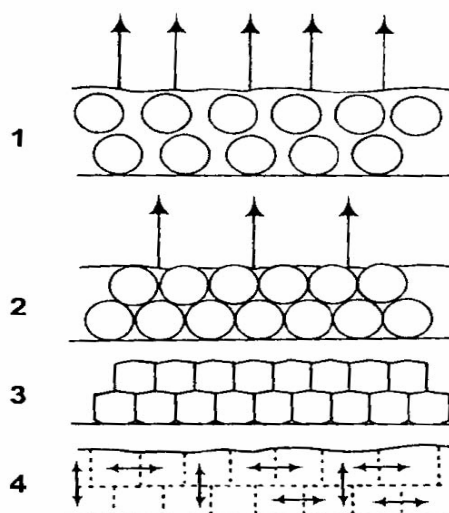
3.3.6 Kva skjer ved laging av filmar?

Prinsippet ved filmcoating er vist i figur 3.6. Coatingvæska vert først forstøva ved hjelp av ei dyse. Dråpane vert deretter ført gjennom lufta, heilt til dei kolliderar med overflata av kjernen. Normalt vil storleiken på dråpane endre seg medan dei er i rørslé i lufta. Koalescens mellom dråpar gjer at dråpestorleiken vil auke, men sidan det samstundes føregår ei fordamping frå dråpane, kan dråpestorleiken bli redusert. Etter at overflata er fukta, spreier dråpane seg utover og lagar eit tynt væskelag, som ved borttørring av løysnings- eller dispergeringsmiddelet, utgjer ein samanhengande polymerfilm. For at ein slik film skal bli laga, må tørkehastigheita vere såpass låg at dråpane rekk å gå saman innan dei tørkar. Likevel må tørkehastigheita vere så høg at tørkinga skjer umiddelbart etter at dråpane har laga ein samanhengande film. Dersom overflata på kjernen vert fuktig, vil kjernane klistre seg saman [21]. Ein slik situasjon vil gje produkt utan tilfredsstillande kvalitet.



Figur 3.6 Korleis filmen vert laga i ein coatingprosess [21].

Når coatingvæska består av ein latexdispersjon, skjer filmlaginga ved mekanismen vist i figur 3.7. I første del av prosessen skjer ei rask fordamping av vatnet, noko som medfører at dei kuleforma latexpartiklane i trinn 2, berre er åtskilte av ein tynn film av vatn. Vidare fordamping av vatnet vil deformere latexpartiklane på grunn av overflatespenninga til polymeren og kapillærkrefter frå vassfilmen (trinn 3). I trinn 4 vert det laga ein samanhengande polymerfilm ved at polymermolekyla flyttar seg over grenseflata mellom latexpartiklane. For at latexpartiklane kan flyte saman til ein samanhengande film, må polymeren vere tilstrekkeleg blaut [21]. Bruk av mjukgjerar kan vere ein måte å oppnå dette på (sjå 3.3.5).



Figur 3.7 Mekanisme ved filmlaging frå vasshaldig polymerdispersjon [21].

3.4 Formuleringar med modifisert frisetjing

3.4.1 Definisjonar

Granulat med modifisert frisetjing er coata eller ucoata granulat framstilte med spesielle hjelpestoff eller ved ein spesiell prosedyre, som kvar for seg eller til saman modifiserar hastigheita eller staden der den aktive legemiddelsubstansen vert friset [2].

Coata granulat er vanlegvis MU-formuleringar, og består av granulat coata med eitt eller fleire lag av blandingar med ulike hjelpestoff [2].

3.4.2 SU- og MU-formuleringar

Formuleringar med modifisert frisetjing kan delast i to typar: "Single unit dosage forms" (SU-formuleringar) og "multiple unit dosage forms" (MU-formuleringar). Tablettar er eit døme på ei SU-formulering, medan granulat og pellets vert rekna som MU-formuleringar.

MU-formuleringar har følgjande fordelar i forhold til SU-formuleringar [31]:

- God reproduserbar transport gjennom mage-tarmsystemet
 - Kan passere gjennom ein lukka pylorus på same måte som ei væske
 - Inter- og intravariabilitet av plasmaprofilar vert redusert til eit minimum
- Vert lett dispergert i gastrointestinaltrakta
 - Absorpsjonen av legemiddel vert auka til eit maksimum
 - Potensielle biverknader minimaliserast
 - Unngår høge lokale konsentrasjonar
- Mindre risiko for plutsleg frisetjing av heile dosen samtidig i ei formulering med modifisert frisetjing
- Kan kombinere granulat Korn med ulike frisetjingshastigheiter for å oppnå ein ynskjeleg frisetjingsprofil

3.4.3 Kvifor bruke formuleringar med modifisert frisetjing?

Formuleringar med modifisert frisetjing har ei rekkje fordelar samanlikna med ordinære preparat. Den farmakologiske effekten kan aukast, på same tid som optimal terapeutisk respons kan oppnåast. I tillegg vil redusert doseringsfrekvens auke pasient compliance, medan den jamne plasmaprofilen vil redusere sannsynet for biverknader og toksiske effektar [31]. Det er formuleringa som skal kontrollere eller avgrense tilgangen av legemiddelet til blodstraumen. For nokre legemiddel er det naudsynt med stadspesifikk frisetjing for å ha kontroll over absorpsjonen. Dette gjeld blant anna legemiddel med låg permeabilitet eller løyselegheit i intestinaltrakta, kjemisk ustabile legemiddel, legemiddel som vert bunde til tarminnhaldet, og legemiddel som vert degraderte av mikroorganismar i tjukktarmen [32]

3.5 Statistisk forsøksplanlegging

3.5.1 Kvifor utføre statistisk forsøksplanlegging?

Eksperimentelle forsøk er ofte dyre og tidkrevjande å utføre. For å gjere så få forsøk som mogleg, og på same tid få mest mogleg informasjon ut av kvart forsøk, er det vanleg å bruke statistisk forsøksplanlegging, også kalla eksperimentelt design. Dette er ein metode som vert brukt for å planleggje eksperimentelle forsøk, og som gjev brukaren eit verdifullt verktøy for å kunne utføre effektive forsøk [33].

Statistisk forsøksplanlegging vert blant anna brukt innan forskning, utvikling og produksjon for systematisk å kunne undersøkje ulike typar problem som oppstår [34]. Tradisjonelt har det vore vanleg å variere ein faktor om gongen. Ved å bruke eksperimentelt design, kan mange faktorar varierast samtidig, og følgjande fordelar kan oppnåast [33]:

- Får vite eksakt kor mange forsøk som må utførast for å få den ynskjelege informasjonen.
- Hovudeffektar er skilt frå samspelseffektar, og desse kan studerast uavhengig av kvarandre.
- Resultata vert analysert i ein modell som gjer det mogleg å predikere kva som vil skje i eit eksakt forsøk.
- Kan skilje signifikante effektar frå tilfeldig variasjon.

3.5.2 Ulike typar eksperimentelle design/forsøksdesign

Type forsøksdesign vert valt på bakgrunn av kva føremål det skal ha, og korleis ein trur responsen heng saman med variablane. Dersom det er sannsynleg at det er ein lineær samanheng, vert eit design med to nivå valt. Ved ulineære samanhengar mellom responsen og variablane, må det nyttast fleire nivå. Ved mistanke om samspel, må dette undersøkjast ved å sjå på kva som skjer når variabel A aukast ved eit nivå av variabel B, kontra å auke A ved eit anna nivå av B. At ein på førehand må ha kjennskap til formuleringar, prosessar og produksjon, samt tenkje over kva som verkar fornuftig, skil statistisk forsøksplanlegging og kjemometri frå vanleg statistikk [33].

- Screeningdesign
 - Det finst tre typar screeningdesign: Fullfaktordesign, fraksjonelt faktorielt design og plackett-burman design. Når det er ynskjeleg med informasjon om alle hovud- og samspelseffektar, vert fullfaktordesign brukt. Talet på forsøk vert funne med formelen 2^n , der n = talet på variablar og 2 viser at kvar variabel har to nivå. Ei ulempe er at det fort vert mange forsøk dersom mange variablar skal undersøkjast. Fraksjonelt faktorielt design vert brukt når effektane av eit forholdsvis stort tal variablar (3-15) skal undersøkjast. Formelen 2^{n-k} , med n og 2 forklart ovanfor og k = reduksjonsfaktoren, vert nytta for å finne kor mange forsøk som må utførast. Ved å redusere designet vil noko informasjon gå tapt. Det vil skje ei samanblanding av hovud- og samspelseffektar, og dei kan dermed ikkje studerast uavhengig av kvarandre. Dette gjer at det vert vanskeleg å avgjere kva variablar som forårsakar effekten. Oppløysinga til designet seier noko om grada av samanblanding. Når 15-32 variablar skal undersøkjast, er det vanleg å nytte eit plackett-burman design [33].
- Optimaliseringsdesign
 - Optimaliseringsdesign vert brukt viss det er grunn til å tru at det finst eit optimum. Ein slik situasjon medfører bruk av fleire enn to nivå, fordi det vil vere ein ulineær samanheng mellom responsen og variablane. Tre typar design vert vanlegvis nytta: Fullfaktordesign med

tre eller fleire nivå, central composite design og box-behnken design. Design med tre nivå er nyttige å bruke når komplekse samspelseffektar skal studerast. Eitt unntak er box-behnken design som også inneheld tre nivå, men som manglar ekstreme situasjonar. Central composite design er eigentleg ei utviding av eit fullfaktordesign til fem nivå. Dette designet kan beskrive kompliserte krummingar [33].

- ”Mixed level” design
 - Eit slikt design vert brukt viss dei ulike variablane skal undersøkjast på eit ulikt antal nivå. Her kan det vere enten ein lineær eller ulineær samanheng mellom responsen og variablane [35].
- ”Mixture” design
 - Dersom nivået av alle variablane til saman skal utgjere noko bestemt, vert ”mixture” design brukt. Her vil variablane vere avhengige av kvarandre, og det kan vere enten ein lineær eller ulineær samanheng mellom responsen og variablane [35].
- D-optimalt design
 - Slike design vert nytta når det er lagt inn begrensningar på korleis variablane i til dømes eit ”mixture” design, kan variere. Prinsippet ved D-optimalt design går ut på å velje ut forsøk som lukkar inne eit maksimalt volum [35].

3.5.3 Senterpunkt

Det er vanleg å utføre tre forsøk i senterpunktet til designet. Dette vert gjort for å sjekke presisjonen til metoden (standardavvik), og om det finst ikkje-lineære samanhengar [33].

3.6 Multivariat analyse

Etter å ha brukt statistisk forsøksplanlegging og forsøka har blitt utført, må resultata bearbeidast. Når meir enn ein variabel skal analyserast på same tid, vert multivariat analyse brukt. Multivariat analyse består av ulike analysemetodar (PLS, PCA og MLR) der det vert laga modellar som beskriv variasjonen i eit datasett. Det er vanleg å dele multivariat analyse inn i to trinn; kalibrering og validering.

3.6.1 Kalibrering og validering

Først må kalibrering utførast. Dette inneber å finne ein modell som beskriv samanhengen mellom X og Y. Matematisk vert dette kalla regresjon. Modellen kan så brukast på nye X-målingar for å predikere nye Y-verdiar. Slik kan det utførast færre Y-målingar, noko som er ynskjeleg fordi dei ofte er dyre, uetiske, tid- og arbeidskrevande eller farlege å utføre [36].

Modellen må så validerast. Validering vil seie å teste prediksjonsevna på eit nytt datasett. Ein god modell skal berre innehalde systematisk variasjon og ikkje støy. Ein slik modell vil dermed ha ei god prediksjonsevne. Validering er difor naudsynt for å fange opp modellar som inneheld støy. Slike modellar vil ikkje klare å predikere nye prøver nøyaktig, og såleis vil prediksjonsevna vere dårleg. Det finst ulike typar validering [37]:

- Testsett validering
 - Dette er den beste valideringsmetoden. Her vert eit fullstendig nytt datasett brukt som testsett. Den kalibrerte modellen predikerar Y-verdiane, og desse vert samanlikna med dei målte Y-verdiane i testsettet.
- Kryssvalidering
 - Kryssvalidering vert brukt når det er for få målingar til å utføre testsett validering. Det finst to typar kryssvalidering: Full kryssvalidering og segmentert kryssvalidering. Full kryssvalidering inneber å lage like mange submodellar som det er objekt, og kvar gong halde eitt objekt

ute og bruke dette til testing. Når dette vert for tidkrevjande, eller når det er mange prøver og ein ikkje veit korleis ein skal plukke ut representative prøver, vert segmentert kryssvalidering nytta. Her vert kalibreingsdatasettet delt inn i segment, og eitt og eitt segment vert halde utanfor under modelleringa og brukt til testing.

- Påverknadskorrigert ("leverage-corrected") validering
 - I denne metoden vert kalibreringsdatasettet også brukt til validering av modellen. Kvart forsøk i datasettet blir imidlertid korrigert for kor stor påverknad det har på modellen. Denne valideringsmetoden er rask å bruke, og vert berre brukt i byrjinga av ei modellering. Ved validering av den endelege modellen, må testsett validering eller kryssvalidering erstatte påverknadskorrigert validering, fordi desse metodane er meir pålitelege.

3.6.2 PLS ("Partial least squares regression")

PLS ("Partial least squares regression") er ein regresjonsmetode som relaterar variasjonar i ein eller fleire responsar, Y-variablar, til variasjonar i fleire X-variablar. Informasjonen i dei opphavlege X-dataene, vert projisert ned på eit lite antal underliggjande (latente) variablar kalla PLS-komponentar. Y-dataene vert aktivt tatt inn i X-matrisa, og retninga til Y vil avgjere retninga til PLS-komponentane. Dette sikrar at dei første PLS-komponentane vil vere mest relevante for å predikere Y-variablar. I PLS1 vert det modellert med ein Y-variabel, medan fleire Y-variablar inngår i PLS2. Ved å plote PLS-komponentane kan ein studere samanhengar mellom X- og Y-variablar, og samanhengar innan X-variablar og innan Y-variablar [36].

I PLS er følgjande plott viktige:

- "Score plot"
 - Her kan "outlierar", trendar og grupperingar identifiserast.

- "Loading plot"
 - Viser korleis X- og Y-variablane er korrelert, og kor viktig den enkelte X-variabel er på Y-variabelen eventuelt, Y-variablane.
 - Plottet viser også kor mykje av variasjonen i Y som er forklart av variasjonen i X.
- Forklart kalibrert variansplott
 - Vert brukt for å finne talet på PLS-komponentar som skal inngå i modellen.
- "Influence plot"
 - Her vert "leverage" plotta mot residualverdi. Prøver med høg "leverage" påverkar modellen mykje, medan prøver med høgt residual vert dårleg forklart av modellen. Plottet vert nytta til å identifisere "outlierar", då desse ofte har høg "leverage" og høg residualverdi.
- Regresjonskoeffisientplott
 - Vert brukt for å undersøkje kva slags variablar som er statistisk signifikante. Faktorar med høg regresjonskoeffisient vert forklart bra, og har stor innverknad på den matematiske modellen. Under modelleringa vert ikkje-signifikante regresjonskoeffisientar tatt ut ein etter ein, til alle er signifikante. For å finne ut om dei er signifikante eller ei, vert det utført ein "uncertainty test" med signifikansnivå $p = 0.05$.
- Predikert mot målt plott
 - Kan brukast for å undersøkje kor god modellen er til å predikere nye verdiar. Ein god modell har korrelasjon og stigningstal nær 1.
- Responsflateplott
 - Vert brukt for å vise effekten av variasjon mellom faktorane. I tillegg kan effekten av signifikante samspel studerast.

3.6.3 Andre analysemetodar

I PCA ("Principal component analysis") vert det berre modellert på X-matrisa. Metoden vert brukt for å få eit overblikk over datastruktur, og for å påvise "outlierar". Informasjonen i original variablane vert projisert ned på eit mindre antal underliggjande (latente) variablar kalla prinsipalkomponentar, PC. Den første prinsipalkomponenten, PC1, vert lagt i den retninga med størst variasjon i dataene. PC2, den andre prinsipalkomponenten, er ortogonal til PC1, og ligg i ei retning med nest størst variasjon i dataene, osv... Ved å plote prinsipalkomponentane mot kvarandre, kan ein finne ut om variablane er korrelerte eller uavhengige av kvarandre. I tillegg kan mønster og grupperingar detekterast og tolkast, samt at likskapar og ulikskapar mellom prøvene kan komme fram [38].

MLR ("Multiple linear regression") er ein statistisk metode som baserar seg på minste kvadraters metode. MLR relaterar variasjonen i ein responsvariabel (Y), til variasjonar i fleire X-variablar [36]. Denne metoden fungerer ikkje når det er korrelasjon mellom X-variablane og når det er fleire variablar enn prøver. Om effekten er signifikant, vert avgjort av talet på friheitsgrader, kor stort standardavviket er, og kor stor effekten er.

4 MATERIALE OG METODE

4.1 Materiale

Namn brukt i oppgåva	Produktnamn og informasjon	Distributør
Eudragit RS 30 D	Eudragit [®] RS 30 D Dispersjon 30% w/w	Röhm, Tyskland
Gelatin	Gelatina isoelektrisk punkt pH 9, 0.7 mm	Norsk Medisinaldepot
Gelatinkapslar	Hard nr.1, 0.5 ml	Apotekproduksjon AS, Noreg
HPMC	Methylhydroxypropyl - cellulosum 5	Norsk Medisinaldepot
Laktose	Lactosum monohydricum 0.15 mm	Norsk Medisinaldepot
Mikrokrystallinsk cellulose (MCC)	Avicel PH-101	AWL Scandinavia, Sverige
Natriumcrosscarmellose	Ac-Di-Sol [®]	FMC International, Irland
Natriumfosfat	Natriumfosfat-12-hydrat (Na ₃ PO ₄ × 12 H ₂ O) M _w = 380.18 g/mol	VWR International, Noreg
Natriumhydroksid	Natriumhydroksid - pro analysi (NaOH) M _w = 40.00 g/mol	Merck eurolab, Noreg
Natriumstivelsesglykolat	Primojel [®]	Norsk Medisinaldepot

Riboflavin	Riboflavin (Vitamin B ₂) $C_{17}H_{20}N_4O_6$ $M_W = 376.37 \text{ g/mol}$	Merck eurolab, Noreg
Saltsyre	Hydrochloric acid fuming 37% - extra pure 1 l = 1.19 kg	VWR International, Noreg
Stivelse (potetstivelse)	Solani amylum	Norsk Medisinaldepot
Talkum	Talcum	Norsk Medisinaldepot
Triethylcitrat	Triethylcitrat - for syntese $C_{12}H_{20}O_7$ $M_W = 276.29 \text{ g/mol}$ 1 l = 1.14 kg	Merck eurolab, Noreg

Destillert og ionebytta vatn vart framstilt ved hjelp av Aquatron A4S (Bibby sterilin LTD, England).

4.2 Løysningar

4.2.1 0.1 M saltsyre

9.9 g saltsyre vart vege inn. Destillert vatn vart tilsett til 1 liter. pH vart målt og justert til 1.0 ved hjelp av 2 M saltsyre- eller 2 M natriumhydroksid- løysning.

4.2.2 0.2 M natriumfosfat

76.0 g natriumfosfat vart vege inn og løyst i destillert vatn til 1 liter.

4.2.3 2 M saltsyre

197.1 g saltsyre vart vege inn. Destillert vatn vart tilsett til 1 liter.

4.2.4 2 M natriumhydroksid

80.0 g natriumhydroksid vart vege inn og løyst i destillert vatn til 1 liter.

4.3 Metodar

4.3.1 Pulverblanding

Tørrstoffa vart vege inn og blanda volumetrisk i ein mortar. I tillegg vart tørrstoffa blanda i ei blandemaskin (Kenwood electronic major, England) ved hastigheit 2 i 10 minutt. Maskina vart stoppa etter 2.5, 5 og 7.5 minutt for manuell omrøring og nedskraping frå kanten.

4.3.2 Granulering med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska

Brukte to ulike konsentrasjonar: 4 g gelatin vart løyst i 96 g varmt vatn, og 8 g gelatin vart løyst i 92 g varmt vatn. Løysningen vart avkjølt til 45°C. Pulverblandinga vart fukta med litt av gelatinløysningen litt etter litt under omrøring i same blandemaskin som under 4.3.1 ved hastigheit 2-3, inntil konsistensen verka å vere som ”kram snø”. Gelatinløysningen vart tilsett i løpet av 5 minutt og forbruk vart notert. Pulverblandinga med granuleringsvæske vart ytterlegare omrørt i blandemaskin i 10 minutt før det vart sikta gjennom ei 1.0 mm sikt. Forbruket av granuleringsvæske i % vart rekna ut etter følgjande formel:

$$\text{Forbruk gr.væske (\%)} = [\text{Forbruk gr.væske (g)} / \text{Vekt pulverblanding (g)}] * 100 \%$$

4.3.3 Granulering med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Brukte tre ulike konsentrasjonar: 10 g HPMC vart svelt i 90 g vatn ved 80°C, 15 g HPMC vart svelt i 85 g vatn ved 80°C og 20 g HPMC vart svelt i 80 g vatn ved 80°C. Granuleringsvæska vart avkjølt til 70°C og omrørt ved 300-400 rpm og halde på denne temperaturen ved hjelp av ein magnetrørar med varmeplate (Heidolph MR 3001 K, Tyskland). Pulverblandinga vart fukta med granuleringsvæska i ei mengd tilsvarende 50 % av vekten av pulverblandinga. Enkelte forsøk vart overfukta med denne mengda granuleringsvæske, og såleis vart mindre granuleringsvæske tilsett. Forbruk vart notert. Under fuktinga vart pulverblandinga omrørt under same vilkår som i 4.3.2. Granuleringsvæska vart tilsett innan 5 minutt. For å oppnå ”kram snø”-konsistens vart det til enkelte formuleringar tilsett destillert vatn i tillegg til granuleringsvæska. Forbruk vart notert. Pulverblandinga med granuleringsvæske vart ytterlegare omrørt i blandemaskin i 10 minutt før det vart sikta gjennom ei 1.0 mm

sikt. Enkelte formuleringar viste tendens til laging av deig under omrøringa, og vart difor omrørt i eit kortare tidsintervall. Forbruket av granuleringsvæske og eventuelt destillert vatn i % vart rekna ut etter følgjande formel:

Forbruk gr.væske og dest. vatn (%) =

$$[(\text{Forbruk gr.væske (g)} + \text{Forbruk dest.vatn (g)}) / \text{Vekt pulverblanding (g)}] * 100 \%$$

4.3.4 Tørking av granulat

Granulatet laga under 4.3.2 og 4.3.3 vart tørka ved romtemperatur over natta. Granulat som ikkje var tilstrekkeleg tørt, vart ytterlegare tørka til neste dag. Tørka granulat vart sikta gjennom ei 1.7 mm sikt.

4.3.5 Analyse av storleiksfordelinga

Etter tørkeprosessen vart granulatet analysert i eit siktetårn (Fritsch, Tyskland) med sju ulike sikter (0.15, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.7 og 2.4 mm) i 3 minutt, og storleiksfordelinga vart bestemt.

4.3.6 Brotstyrke

Ti granulat Korn frå kvar batch innan storleiksfordelingane 0.7 – 1.0 mm og 1.0 – 1.7 mm, vart målt brotstyrke på ved hjelp av ein ”texture analyser” (TA-XT2[®]HR, Stable Micro Systems, England). Dette er ei modifisering av metoden til Schröder og Kleinebudde [39] for måling av brotstyrke på pellets. Pressflata vart senka med ei hastigheit på 1 mm/s ned på granulat Kornet. Kompresjonskrafta (cs) vart målt ned til 50 % av høgda til granulat Kornet (d). Brotstyrken (ts) vart rekna ut for kvart enkelt granulat Korn etter følgjande likning:

$$ts = [4 * cs] / [\pi * d^2]$$

Gjennomsnittet av dei 10 målingane vart brukt som brotstyrke for batchen.

4.3.7 Slitetap i fluid bed

Frå batchar med meir enn 40 g granulat innan storleiksfordelinga 1.0 - 1.7 mm, vart granulatet sikta 0.3 mm og av dette vart 40 g slitetapstesta i ein Uni-Glatt fluid bed med Wurster innsats (Glatt GmbH, Tyskland). For batchar med mindre enn 40 g granulat, vart granulatet slitetapstesta dersom minimum 30 g granulat var tilgjengeleg. Høgda på innersylindaren vart justert. Luftstraumen vart regulert til ei uniform rørsle av granulatkorner var oppnådd. Når materialet hadde oppnådd ynskjeleg temperatur, vart prosessen utført i 50 minutt. Granulatet vart deretter sikta 0.3 mm, og vekt av granulatet vart notert. Slitetapet vart til slutt rekna ut etter følgjande formel:

$$\text{Slitetap} = [(Vekt_{\text{før}} - Vekt_{\text{etter}}) / Vekt_{\text{før}}] * 100 \%$$

Vekt_{før}: Vekta av granulatet før slitetapstesting i fluid bed

Vekt_{etter}: Vekta av granulatet etter slitetapstesting i fluid bed

Følgjande innstillingar av prosessvariablane for fluid bed apparaturen vart nytta:

- Spraytrykk: 1.0 Bar (Det vart berre spraya luft på granulatet)
- Luftstraum ("inlet air flap"): 25
- Temperatur: 40°C
- Høgda på innersylindar over botnen: 1.0 cm

4.3.8 Tillaging av coatingvæske

Trietylцитrat vart vege inn i eit begerglas. Eudragit RS 30D vart tilsett. Talkum sikta 0.15 mm vart rørt inn for hand, før ein stavmiksar (Bamix, Sveits) vart brukt til omrøring i 3 minutt. Destillert vatn vart til slutt tilsett og rørt inn med stavmiksaren som beskrive ovanfor. Coatingvæska vart lagra mørkt før bruk.

4.3.9 Fluid bed coating

Coatinga vart utført i ein Uni-Glatt fluid bed med Wurster innsats (Glatt GmbH, Tyskland). Innsatsen vart fylt med 200 g granulat innan storleiksfordelinga 1.0 – 1.7 mm. Høgda på innersylindaren vart justert. Luftstraumen vart regulert til ei uniform rørsle av produktet var oppnådd. Når granulatet hadde fått ynskjeleg temperatur, vart

prosessen starta. Spraytrykket vart stilt inn. Pumpa (Verder VRX 88 peristaltisk pumpe, Glatt GmbH, Tyskland) vart starta og stilt inn på ynskjeleg pumpehastigheit. Operatør heldt oppsyn med sprayinga for å sikre at granulatkorna heile tida var i rørsle for å unngå produktadhesjon. Luftstraumen vart auka viss rørsle vart for liten.

4.3.10 Curing av granulat

Coata granulat vart lagt på tre urglas i eit tørkeskåp (Termaks, Noreg) ved 40°C i 24 timar.

4.3.11 Bestemmelse av vektauking av granulat etter coating

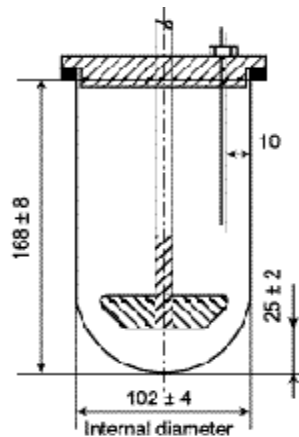
200 granulat Korn med coating vart telt og vege. Dette vart gjentatt to gongar. Gjennomsnittet vart samanlikna med vekten av granulat Korn utan coating.

4.3.12 Fylling av coata granulat i kapslar

Coata granulat tilsvarende 10 mg virkestoff vart vege ut og fylt i ein kapsel ved hjelp av ei glastrakt med ein smal opning som passa ned i kapselen. Dette vart gjort for granulat der prøveuttaket under frisetjinga vart gjort automatisk (sjå 4.3.13).

4.3.13 In vitro frisetjing

Frisetjinga vart utført i henhold til paddlemetoden i Den europeiske farmakopé [3]. Paddleapparatet (Sotax AT6, Sveits og Dissolutest, Prolabo, Frankrike) består av seks frisetjingskar, seks ”paddlar”, ein motor og eitt vassbad. Kvart kar har ein kapasitet på 1 liter væske, og er utstyrt med eit lokk som skal forhindre fordamping. Sjå figur 4.1. Kara er plassert i eit vassbad med temperatur $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. For å få ei optimal simulering av forholda i gastrointestinaltrakta, vart rotasjonshastigheita til paddlane innstilt på 100 rpm.



Figur 4.1 Frisetjingskar med lokk og paddle [3].

- Manuelt prøveuttak:

Absorbansen til riboflavin vart målt manuelt ved 444 nm i eit spektrofotometer (Shimadzu UV-160A uv-visible spectrophotometer, Japan). At denne bølgjelengda vart brukt, kjem av at forsøka til Bergseng [1] viste at riboflavin har absorpsjonsmaksimum her. 3 ml væske vart tatt ut med ei pipette frå frisetjingskara ved dei aktuelle tidsromma. Litt av væska vart brukt til vasking av kyvetta, medan absorbansen vart målt på 1 ml av væska. For å bestemme total mengde innhaldsstoff, vart frisetjingskara tatt ut og sette i eit ultralydbad (Branson 3510 E-MT, USA). Deretter vart 3 ml tatt ut og sentrifugert (IEC Centra MP4, USA) i 10 minutt, før absorbansen vart målt.

- Automatisk prøveuttak:

Følgjande apparatur vart brukt:

SOTAX AT6 dissolutiontestar (Sotax, Sveits)

SOTAX CY6 pumpe (Sotax, Sveits)

TDS (Tablet dissolution system) dataprogram (LKB Biochrom, England)

Ultraspec III uv/visible spectrophotometer (LKB Biochrom, England)

Whatman glass microfibre filters GF/D circles 25 mm (Whatman, England)

Etter at frisetjingskara var fylte, vart dei degassa i ultralydbad (Branson 3510 E-MT, USA). Dataprogrammet TDS – Tablet dissolution system (Versjon 2.30, LKB Biochrom, England) vart nytta til prøveuttaket. Det vart brukt eit oppsett med automatisk uttak av prøver kvart 10. minutt. For å sikre homogent innhald i

frisetjingskar, slanger og kyvetter vart pumpene starta 5 minutt før kvart uttak. Før uttak av prøver vart løysningen filtrert. Før siste prøveuttak, som vart gjort manuelt, vart same prosedyre følgd som beskrive ovanfor under det manuelle prøveuttaket.

Absorbansmålingane vart omrekna til konsentrasjonar ved hjelp av standardkurver som vart laga for kvart forsøk.

Stamløysningar:

0.1 g riboflavin vart løyst i henholdsvis 3 liter 0.1 M saltsyre-løysning og 3 liter bufferløysning beståande av 2.25 liter 0.1 M saltsyre-løysning og 0.75 liter

0.2 M natriumfosfat-løysning. pH i bufferløysningen vart på førehand justert til 6.8 ved hjelp av 2 M saltsyre- eller 2 M natriumhydroksid-løysning.

Standardløysningar:

5, 10, 15, 25, 50 og 75 ml av stamløysningen vart tatt ut og fortynna til 250 ml med henholdsvis 0.1 M saltsyre-løysning og bufferløysning pH 6.8.

Kara vart fylt med frisetjingsmediet (sjå under frisetjingsmedium), og varma opp til $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Granulat tilsvarande 10 mg virkestoff vart plassert i kvart kar. Frisetjinga vart utført i ulike pH-miljø for å etterlikne gastrointestinaltrakta.

Frisetjingsmedium:

- Standardmediet (pH 1 + pH 6.8):

Det vart tatt utgangspunkt i ein metode beskrive i USP [40]. Kvart av dei seks kara vart fylt med 750 ml 0.1 M saltsyre-løysning. Dette vart varma opp til $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Granulat vart tilsett kvart kar. Etter 2 timar vart 250 ml 0.2 M natriumfosfat-løysning tilsett, og innan 5 minutt vart pH justert til 6.8 med 2 M saltsyre- eller 2 M natriumhydroksid-løysning. Dette mediet vart nytta til granulat coata i henholdsvis 15, 30 og 60 minutt.

- Berre pH 6.8:

Kvart av dei seks kara vart fylt med 1 liter bufferløysning beståande av 750 ml 0.1 M saltsyre-løysning og 250 ml 0.2 M natriumfosfat-løysning. pH vart på førehand justert til 6.8 med 2 M saltsyre- eller 2 M natriumhydroksid-løysning.

Dette mediet vart nytta til ucoata granulat.

4.3.14 Bestemmelse av lagtid

Lagtida, T_{lagtid} , vart sett som den tida då 10 % av virkestoffet var frisett. Dette vart valt på bakgrunn av frisetjingskrav til ”delayed-release (enteric-coated) tablets” i USP [40] der frisetjinga av virkestoff ikkje skal vere høgare enn 10 % etter 2 timar i syre.

4.3.15 Bestemmelse av tida for fullstendig frisetjing

Tida for fullstendig frisetjing, $T_{90\%}$, vart fastsett til tida når 90 % av virkestoffet var frisett.

5 EKSPERIMENTELT

Utgangspunktet var å lage eit vanleg tablettgranulat med riboflavin som modellsubstans for virkestoffet hydrokortison. Sidan hydrokortison vert klassifisert som helseskadeleg, krev stoffet strenge tiltak med hensyn på helse, miljø og sikkerheit [41]. Riboflavin er ikkje skadeleg i same grad som hydrokortison [42], og er å føretrekkje i det praktiske arbeidet. Stoffet har like eigenskapar som hydrokortison, og er i tillegg lett å analysere, samt at det er billegare i innkjøp. Ei ulempe med riboflavin, er at det er ustabilt i løysning i nærver av lys [42].

5.1 Granulat med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska

Modifiserte *granulatum simplex ad tabletas* – hjelpeggranulat til tablettformulering frå Ph.Nord [43] ved å tilsetje riboflavin, samt at det i tillegg til 4 %, vart nytta 8 % gelatin i granuleringsvæska. Ein enkelt dose av granulatet vart sett til 200 mg.

Tabell 5.1 Samansetning av tørrstoffa i granulatet med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska

Tørrstoff	Mengd (mg)	Mengd (%)
Riboflavin	10 mg	5 %
Laktose	57 mg	28.5 %
Stivelse	133 mg	66.5 %
Totalt	200 mg	100 %

Tabell 5.2 Samansetning av binde- og løysningsmiddelet i granuleringsvæska

Granuleringsvæske	Mengd (%)
1. Gelatin	4 %
Destillert og ionebytta vatn	96 %
2. Gelatin	8 %
Destillert og ionebytta vatn	92 %

Ulike mengder granuleringsvæske vart tilsett, for å oppnå eit granulat med flest mogleg granulat Korn innanfor storleiksfordelingane 0.7 - 1.0 mm og 1.0 - 1.7 mm. For storleiksfordelingane 0.7 - 1.0 mm og 1.0 - 1.7 mm vart det målt brotstyrke som beskrive under 4.3.6. For fraksjonen 1.0 – 1.7 mm vart det i tillegg målt slitetap i fluid bed i samsvar med 4.3.7.

5.2 Granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Det vart tatt utgangspunkt i formuleringa i artikkelen ”Aqueous acrylic resin for coating an original theophylline granulate” [44]. Følgjande modifiseringar av formulering og granulering vart gjort:

- Riboflavin vart nytta som virkestoff i staden for teofyllin. Også mengda vart endra, nytta 5 % riboflavin.
- Tilsette disintegrantar i form av natriumcrosscarmellose og natriumstivelsesglykolat. På bakgrunn av tilgjengeleg litteratur [45,46] vart det bestemt å bruke ein konsentrasjon på 4 % for kvar av disintegrantane.
- I granuleringsvæska vart det berre nytta destillert og ionebytta vatn, i staden for kombinasjonen av alkohol og vatn. I tillegg til 15 % HPMC, vart også 10 og 20 % nytta (sjå tabell 5.3).
- Granulatet vart framstilt på den tradisjonelle måten som beskrive under 4.3.3, utan bruk av granulator.
- Tørking av granulatet vart utført i samsvar med 4.3.4.
- Brukte fraksjonane 0.7 – 1.0 mm og 1.0 – 1.7 mm ved testing av brotstyrken, medan berre fraksjonen 1.0 – 1.7 mm vart slitetapstesta og coata.

5.2.1 Screening

Det vart laga eit forsøksdesign i Modde (versjon 5.0, Umetrics AB, Umeå). Forsøksplanen var basert på eit D-optimalt blandingsdesign med fem faktorar. Nivåa vart fastsett på bakgrunn av tilgjengeleg litteratur [44]. Sjå tabell 5.3. Talet på forsøk vart redusert til 21, med tre senterpunkt inkludert (forsøk 19, 20 og 21). Forsøksdesignet vart randomisert. Etter at forsøka var utført, vart det utført to ekstra

forsøk, forsøk 22 og 23. Sjå tabell 6.3. Screeninga vart utført for å finne ut kva slags faktorar av dei utvalde faktorane som hadde betydning for brotstyrken av granulatet. I alle forsøka inngjekk 5 % riboflavin av total pulverblanding.

Tabell 5.3 Faktorane med talet på nivå og dei spesifikke nivåa (sp = senterpunkt). Bindemiddelkonsentrasjonen i % relaterar seg til % HPMC løyst i destillert vatn.

% MCC, stivelse og laktose relaterar seg til kor stor del desse stoffa utgjer av pulverblandinga utan riboflavin.

*: Laktose inngår som ein "filler" og har 2 nivå i det opphavlege forsøksdesignet. I forsøk 22 og 23: 50 % laktose, og i forsøk 101 og 104: 100 % laktose. Sjå tabell 6.3 og 6.4.

Faktorar	Talet på nivå	Nivå
Bindemiddelkonsentrasjon	2	10 – 20 %
Disintegranttype	3	X-Carm SSG Utan
MCC	4	0 – 25 – 50 (sp) – 75 %
Stivelse	4	0 – 25 – 50 (sp) – 75 %
Laktose	2 (4)*	0 – 25 %

Responsen som vart vurdert:

- Brotstyrke: Vart rekna ut som beskrive under 4.3.6.

Resultata vart behandla i Unscrambler (versjon 9.1, Camo ASA, Noreg). Det vart utført PLS-1 på responsen. Alle faktorane vart vekta (1 / standardavviket). Senterpunkta vart blokka og full kryssvalidering vart brukt for å validere modellane. Signifikante faktorar i PLS vart funne ved å utføre ein "uncertainty test" med signifikansnivå $p = 0.05$.

5.2.2 Fullfaktordesign

Faktorane som vart funne å ha størst betydning under screeninga, vart nærare undersøkt i eit fullfaktordesign med to faktorar på to nivå. I kvart av dei fire (2^2) forsøka vart bindemiddelkonsentrasjonen halde på lågt nivå (10 %).

Følgjande faktorar var med i fullfaktordesignet:

- Med / utan natriumcrosscarmellose
- Stivelse: 0 % eller 25 %

Når stivelse inngjekk med 25 %, vart 75 % laktose tilsett. I forsøka utan stivelse, vart 100 % laktose nytta. Forsøka vart nummererte som 101, 102, 103 og 104. Sjå tabell 6.4. Det vart målt brotstyrke på granulata i samsvar med 4.3.6.

5.2.3 Måling av slitetap

For enkelte forsøk vart det målt slitetap som beskrive under 4.3.7. Granulatet som hadde lågast slitetap, vart seinare coata.

Resultata vart behandla i Unscrambler som beskrive i 5.2.1.

5.3 Frisetjing

5.3.1 Fluid bed coating av granulatet

Det vart tatt utgangspunkt i same artikkel som nemnt under 5.2 [44], samt informasjonsbrev frå produsenten av Eudragit® RS 30 D [47]. Coatingvæska vart tillegg i samsvar med 4.3.8. I tabell 5.4 er samansetninga av coatinga vist.

Tabell 5.4 Samansetning av coatingvæska

Innhaldsstoff	Mengd (%)
Eudragit® RS 30 D	39.2 %
Talkum	5.9 %
Trietylcitrat	2.4 %
Destillert og ionebytta vatn	52.5 %
Totalt	100 %

Ut frå [47], vart det beslutta å coate i 15, 30 og 60 minutt. Kvar gong vart 1020 g coatingvæske tillegg. 200 g granulat vart coata.

Innstillinger av prosessvariablane for fluid bed apparaturen (Uni-Glatt med Wurster innsats, Glatt GmbH, Tyskland):

- Pumpe (VRX 88, Verder, Tyskland): Innstilt på 1.3
- Spraytrykk: 0.8 Bar
- Luftstraum ("inlet air flap"): 50
- Temperatur: 40°C
- Høgd på innersylindrar over botnen: 1.0 cm

5.3.2 Måling av frisetjingshastigheit

Frisetjingshastigheita vart bestemt for aktuelle ucoata granulat, samt granulat coata 15, 30 og 60 minutt. Mengda av coata granulat Korn tilsvarende 200 mg ucoata granulat (= 10 mg virkestoff), vart rekna ut frå vektaukinga. For granulat coata i 15 og 30 minutt, vart det utført automatisk prøveuttak som beskrive under 4.3.13. Manuelt prøveuttak (sjå 4.3.13) vart utført for granulatet coata i 60 minutt.

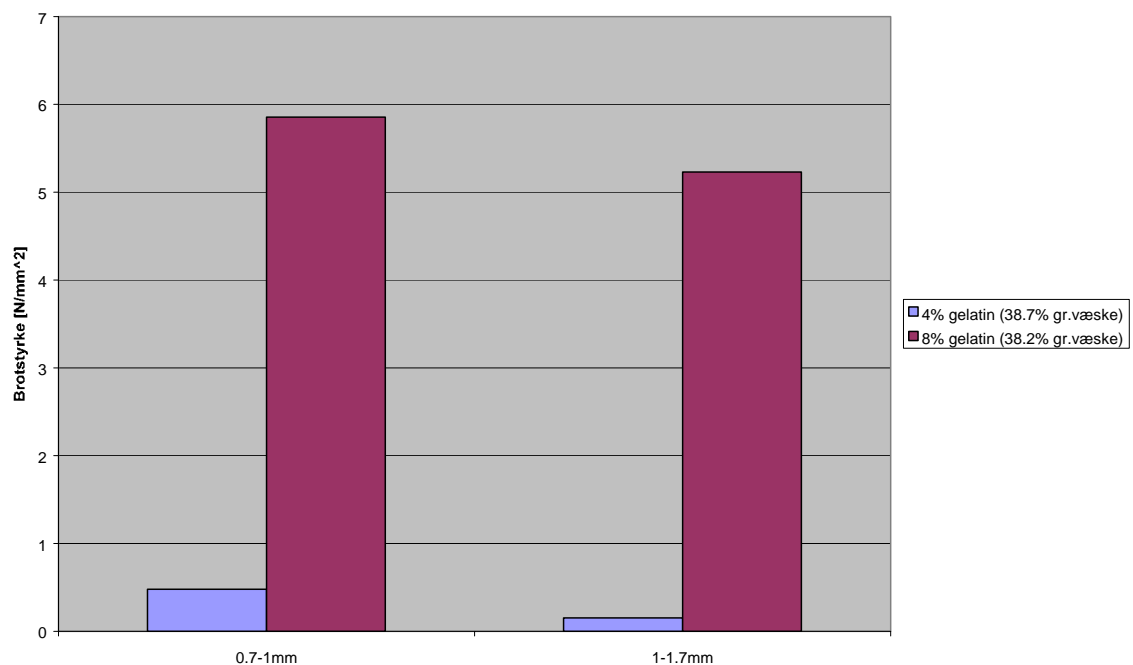
6 RESULTAT

6.1 Granulat med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska

Brotstyrken for 4 % og 8 % gelatingranulat med eit forbruk av granuleringsvæske på henholdsvis 38.7 % og 38.2 %, er vist i tabell 6.1 og figur 6.1.

Tabell 6.1 Forbruk av granuleringsvæske og brotstyrke for storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7 mm med eit innhald av 4 % og 8 % gelatin i granuleringsvæska

Konsentrasjon gelatin (%)	Forbruk granulerings- væske (%)	Brotstyrke 0.7 - 1.0 mm (N/mm ²)	Brotstyrke 1.0 - 1.7 mm (N/mm ²)
4 %	38.7 %	0.48	0.15
8 %	38.2 %	5.85	5.23



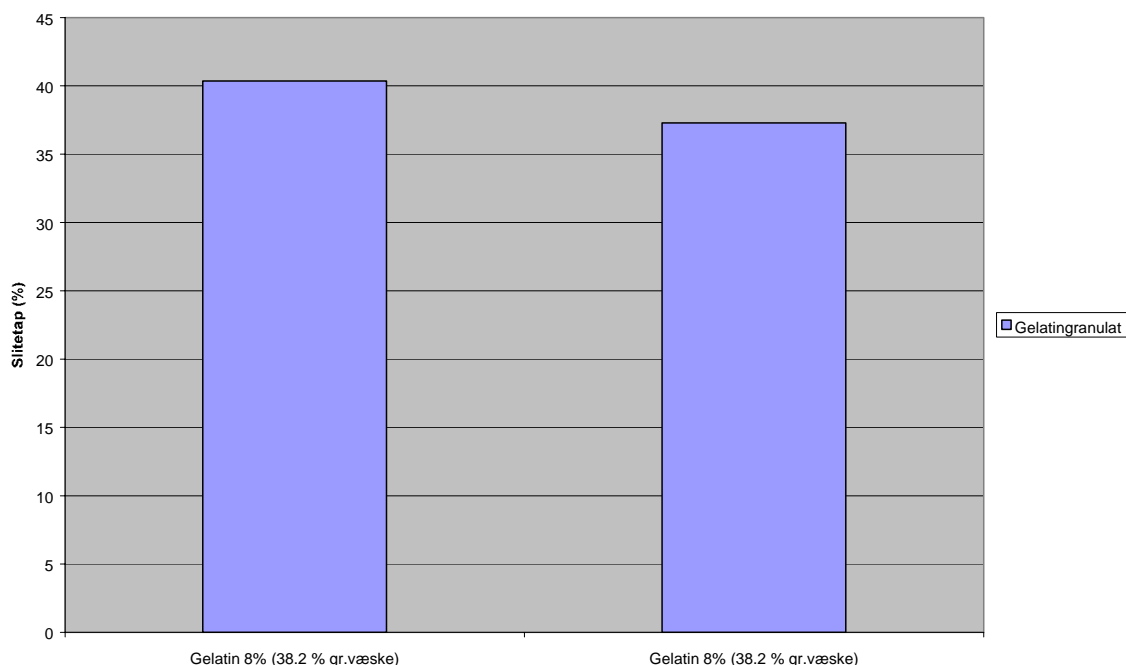
Figur 6.1 Brotstyrke for granulat med 4 % og 8 % gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska.

Det var ikkje mogleg å måle slitetapet for granulatet med 4 % gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska. Granulatet vart knust til pulver som hadde ein partikkelstorleik mindre enn 0.3 mm.

For granulatet med 8 % gelatin i granuleringsvæska og eit forbruk av granuleringsvæske på 38.2 %, er slitetapet testa to gongar for storleiksfordelinga 1.0-1.7 mm. Resultatet er vist i tabell 6.2 og figur 6.2.

Tabell 6.2 Slitetap for storleiksfraksjonen 1.0-1.7 mm med 8 % gelatin i granuleringsvæska og eit forbruk av granuleringsvæske på 38.2 %

Konsentrasjon gelatin (%)	Forbruk granulerings- væske (%)	Slitetap (%)
8 %	38.2 %	40.4 %
8 %	38.2 %	37.3 %



Figur 6.2 Slitetapet testa to gongar for granulat med 8 % gelatin i granuleringsvæska

6.2 Granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

6.2.1 Screening

I tabell 6.3 er forsøksdesignet vist, samt responsen brotstyrke for granulatet innan storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7mm.

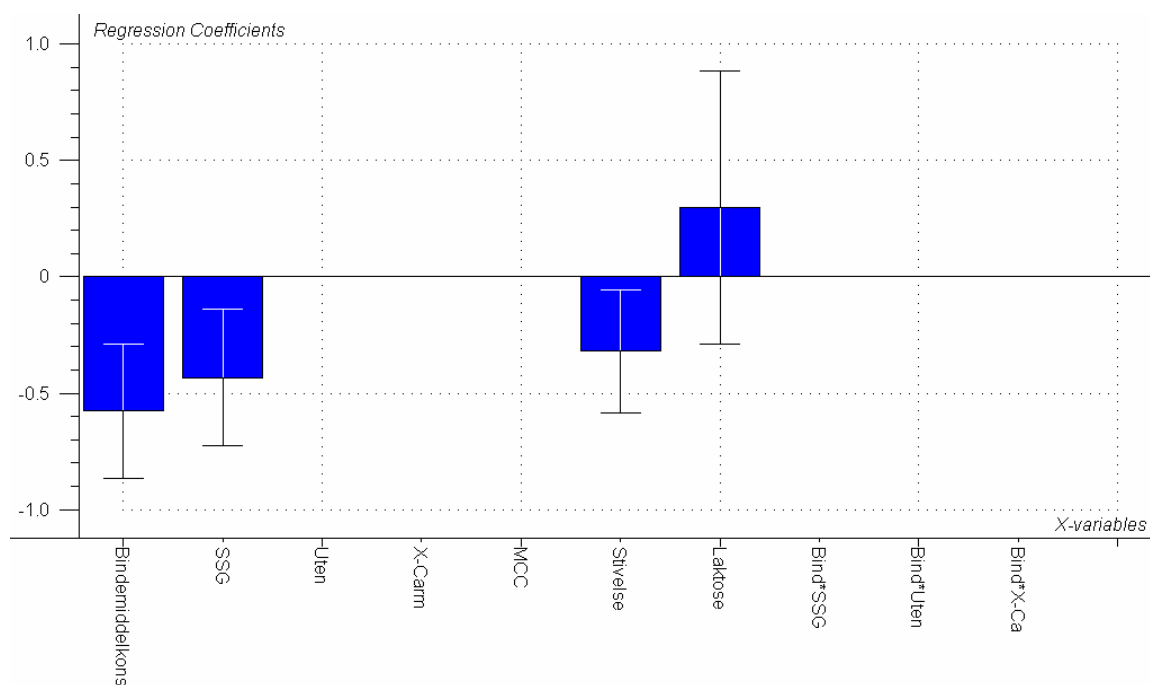
Tabell 6.3 Forsøksdesign med responsen brotstyrke for storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7 mm

Forsøk nr.	Bindemiddel-konsentrasjon (%)	Disintegrant-type	MCC (%)	Stivelse (%)	Laktose (%)	Brotstyrke 0.7-1.0 mm (N/mm ²)	Brotstyrke 1.0-1.7 mm (N/mm ²)
1	10	X-Carm	75	0	25	2.11	4.15
2	20	X-Carm	75	0	25	2.23	2.19
3	10	X-Carm	0	75	25	2.64	2.80
4	20	X-Carm	0	75	25	2.69	2.96
5	10	X-Carm	25	75	0	2.59	2.63
6	20	X-Carm	75	25	0	2.99	2.09
7	10	SSG	75	0	25	6.76	0.80
8	20	SSG	75	0	25	2.06	2.11
9	10	SSG	0	75	25	1.17	2.85
10	20	SSG	0	75	25	2.74	0.92
11	10	SSG	75	25	0	5.11	2.85
12	20	SSG	25	75	0	4.46	0.46
13	10	Utan	75	0	25	4.60	3.37
14	20	Utan	75	0	25	4.82	3.06
15	10	Utan	0	75	25	2.73	2.64
16	20	Utan	0	75	25	1.87	1.64
17	10	Utan	25	75	0	0.88	2.46
18	20	Utan	75	25	0	3.33	2.07
19	15	Utan	50	50	0	1.86	2.57
20	15	Utan	50	50	0	3.10	2.87
21	15	Utan	50	50	0	4.05	2.59
22	20	SSG	25	25	50	3.67	1.65
23	10	Utan	25	25	50	3.73	5.92

Pellets vart brukt som referanse. For storleiksfordelinga 0.7-1.0 mm var brotstyrken 13.6 N/mm², medan tilsvarende måling for storleiksfordelinga 1.0-1.7 mm var 9.9 N/mm².

Forbruket av granuleringsvæske og vatn for forsøka i tabell 6.3 er vist i vedlegg 1. Prosentvis storleiksfordeling for dei ulike fraksjonane for dei same forsøka, er vist i vedlegg 2.

PLS1- resultata for responsen brotstyrke er vist i figur 6.3 og 6.4. For modellen i figur 6.3 (modell 1, sjå vedlegg 3), vart forsøk 7 ekskludert frå analysen, då det under modelleringa kom fram at dette forsøket var ein mogleg outlier. Både for modell 1 og modell 2 (figur 6.4, samt vedlegg 4), vart ikkje-signifikante faktorar fjerna ein etter ein, til dei gjenståande var signifikante. Nokre ikkje-signifikante faktorar står att, fordi modellane si evne til å predikere vart vesentleg dårlegare når desse vart fjerna. Det vart berre modellert på brotstyrken til fraksjonen 1.0-1.7 mm, fordi denne fraksjonen var aktuell for coating seinare.



Hovedeffekter-7, (Y-var, PC): (Br.st.1.0-1.7,1) B0W = 4.758608

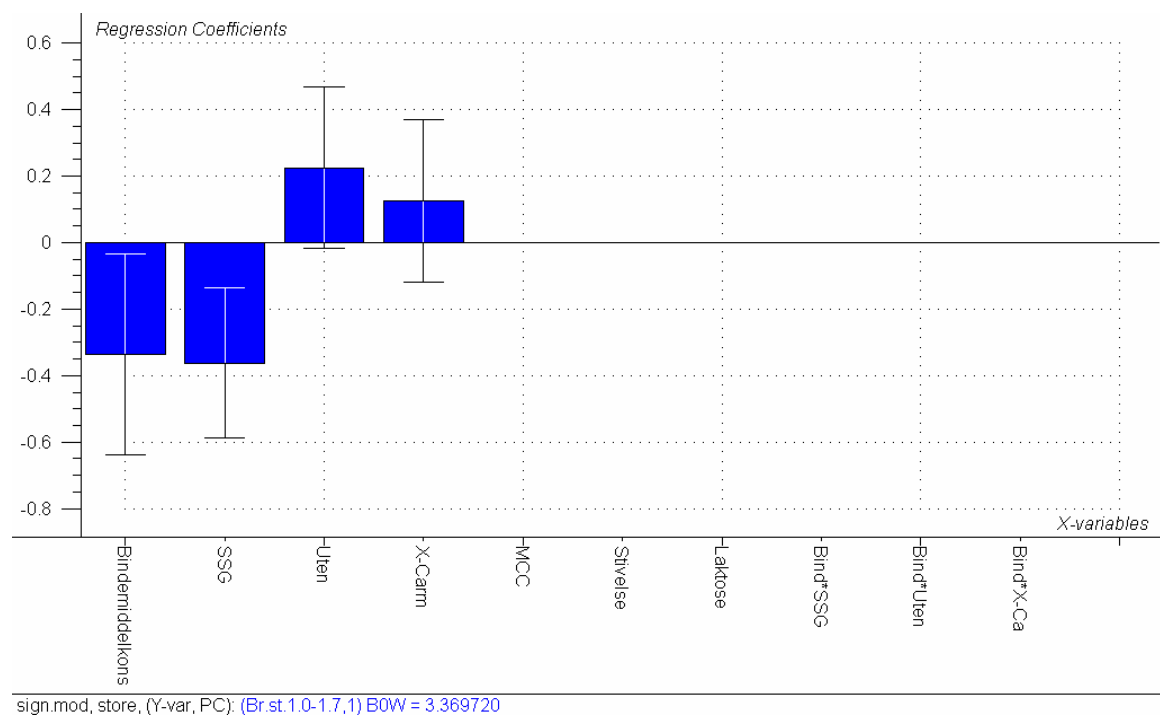
Figur 6.3 Regresjonskoeffisientar frå modell 1 for responsen brotstyrke. Forsøk 7 er ekskludert.

Frå regresjonskoeffisientplottet i figur 6.3, ser ein at for responsen brotstyrke er faktorane bindemiddelkonsentrasjon, natriumstivelsesglykolat (SSG) og stivelse signifikante.

Ut frå modell 1 kan eit granulat med høg brotstyrke oppnåast ved:

- Låg bindemiddelkonsentrasjon (10 %)
- Utan tilsetjing av natriumstivelsesglykolat (SSG)
- Lågt nivå av stivelse, dvs. 0 % eller 25 %

I tillegg indikerar modell 1 at det gunstig med eit høgt nivå av laktose, dvs. 75 % og 100 %, sjølv om denne faktoren ikkje er signifikant.



Figur 6.4 Regresjonskoeffisientar frå modell 2 for responsen brotstyrke

Frå regresjonskoeffisientplottet i figur 6.4, kjem det fram at faktorane bindemiddelkonsentrasjon og natriumstivelsesglykolat (SSG) er signifikante regresjonskoeffisientar for responsen brotstyrke.

Ut frå modell 2 kan eit granulat med høg brotstyrke oppnåast ved:

- Låg bindemiddelkonsentrasjon (10 %)
- Utan tilsetjing av natriumstivelsesglykolat (SSG)

I tillegg indikerar modell 2 at det er gunstig å ikkje tilsetje nokon disintegrant. Skal ein disintegrant tilsetjast, vert valet natriumcrosscarmellose (X-Carm), sjølv om dei to regresjonskoeffisientane utan og X-Carm ikkje er signifikante.

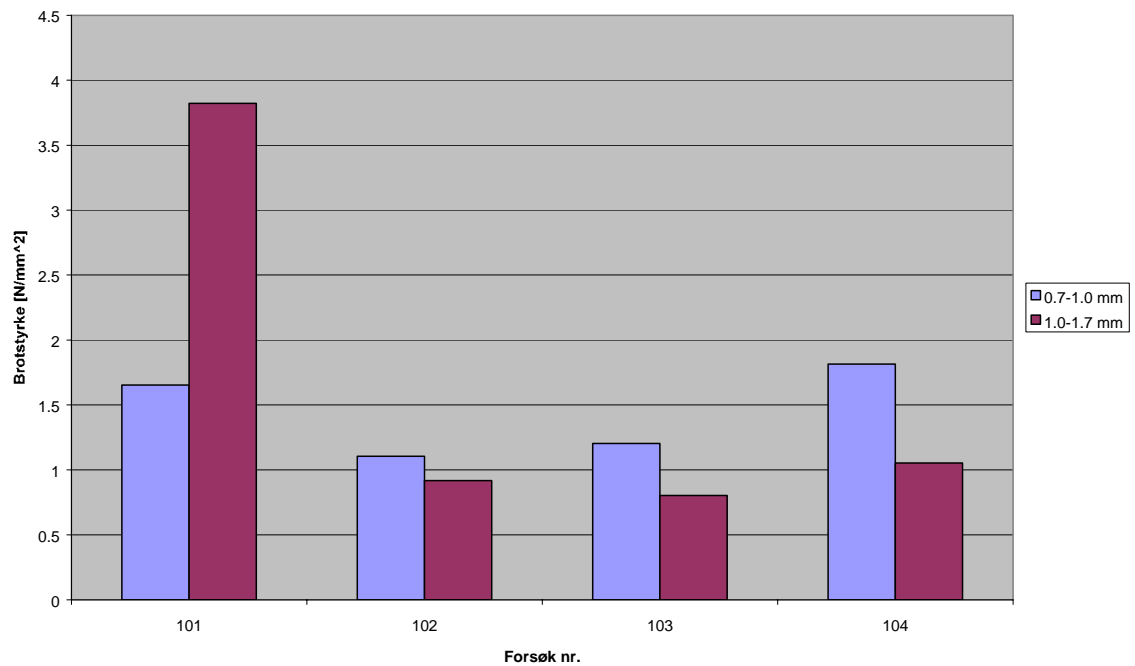
6.2.2 Fullfaktordesign

Modell 1 og 2 vart brukt til predikering av brotstyrken for forsøk 101-104, men dei predikerte verdiane stemde dårleg overeins med dei eksperimentelle resultata. Dette skuldast at desse modellane ikkje eignar seg ikkje til ekstrapolering for forsøk 101-104, sidan nivået av laktose er endra til 75 % og 100 %, verdiar som ligg utanfor områda til modellane.

I tabell 6.4 er fullfaktordesignet vist, samt responsen brotstyrke for granulatet innan storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7 mm. Resultata er også viste grafisk i figur 6.5.

Tabell 6.4 Dei 4 utførte forsøka i fullfaktordesignet med responsen brotstyrke for storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7 mm

Forsøk nr.	Bindemiddel-konsentrasjon (%)	Disintegrant-type	MCC (%)	Stivelse (%)	Laktose (%)	Brotstyrke 0.7-1.0 mm (N/mm ²)	Brotstyrke 1.0-1.7 mm (N/mm ²)
101	10	Utan	0	0	100	1.65	3.82
102	10	X-Carm	0	25	75	1.11	0.92
103	10	Utan	0	25	75	1.20	0.80
104	10	X-Carm	0	0	100	1.81	1.05



Figur 6.5 Brøtstyrken til forsøk 101-104 for storleiksfordelingane 0.7-1.0 mm og 1.0-1.7 mm

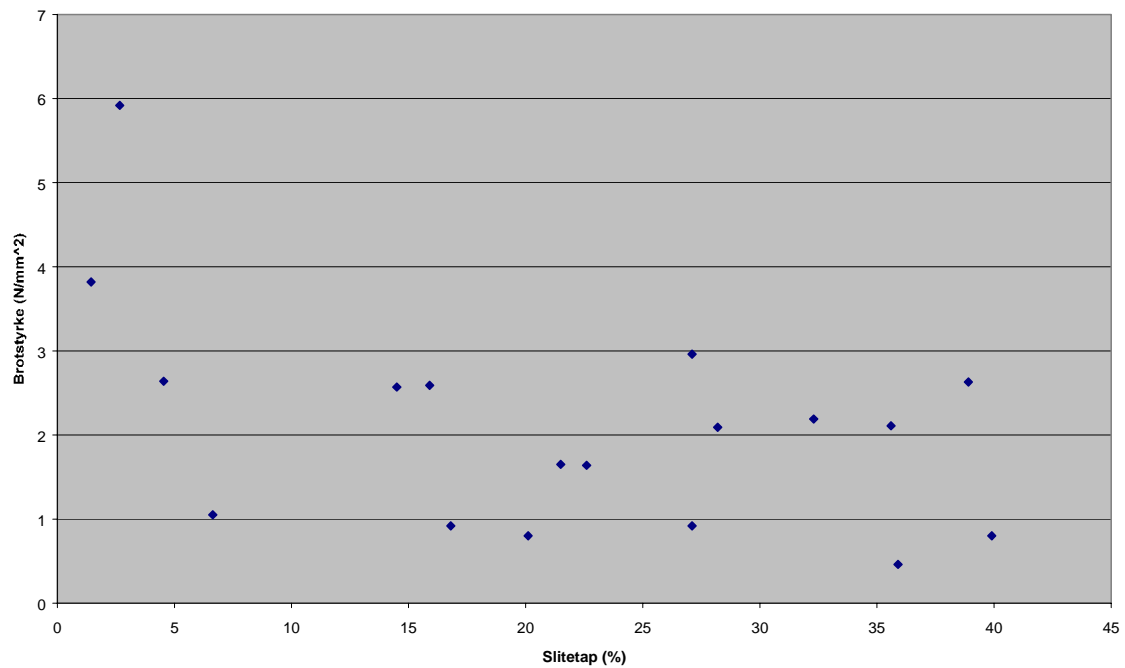
Forbruket av granuleringsvæske og vatn for forsøka i tabell 6.4 er vist i vedlegg 1. Prosentvis storleiksfordeling for dei ulike fraksjonane for dei same forsøka, er vist i vedlegg 2.

6.2.3 Måling av slitetap

Slitetapet til dei aktuelle forsøka, er vist i tabell 6.5. I figur 6.6 er brøtstyrke plotta mot slitetap.

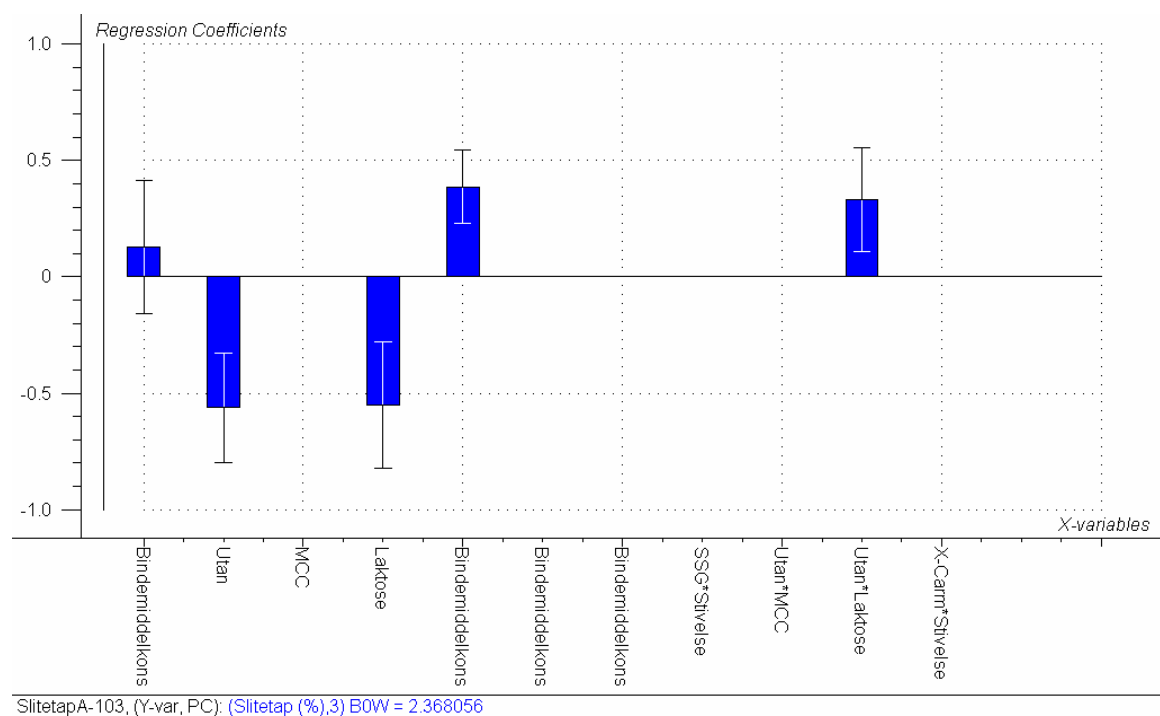
Tabell 6.5 Oversikt over dei ulike forsøka som vart slitetapstesta, samt verdiane for slitetapet til fraksjonen 1.0-1.7 mm

Forsøk nr.	Bindemiddel- konsentrasjon (%)	Disintegrant- type	MCC (%)	Stivelse (%)	Laktose (%)	Slitetap (%)
2	20	X-Carm	75	0	25	32.3
4	20	X-Carm	0	75	25	27.1
5	10	X-Carm	25	75	0	38.9
6	20	X-Carm	75	25	0	28.2
7	10	SSG	75	0	25	39.9
8	20	SSG	75	0	25	35.6
10	20	SSG	0	75	25	27.1
12	20	SSG	25	75	0	35.9
15	10	Utan	0	75	25	4.54
16	20	Utan	0	75	25	22.6
19	15	Utan	50	50	0	14.5
21	15	Utan	50	50	0	15.9
22	20	SSG	25	25	50	21.5
23	10	Utan	25	25	50	2.67
101	10	Utan	0	0	100	1.44
102	10	X-Carm	0	25	75	16.8
103	10	Utan	0	25	75	20.1
104	10	X-Carm	0	0	100	6.64



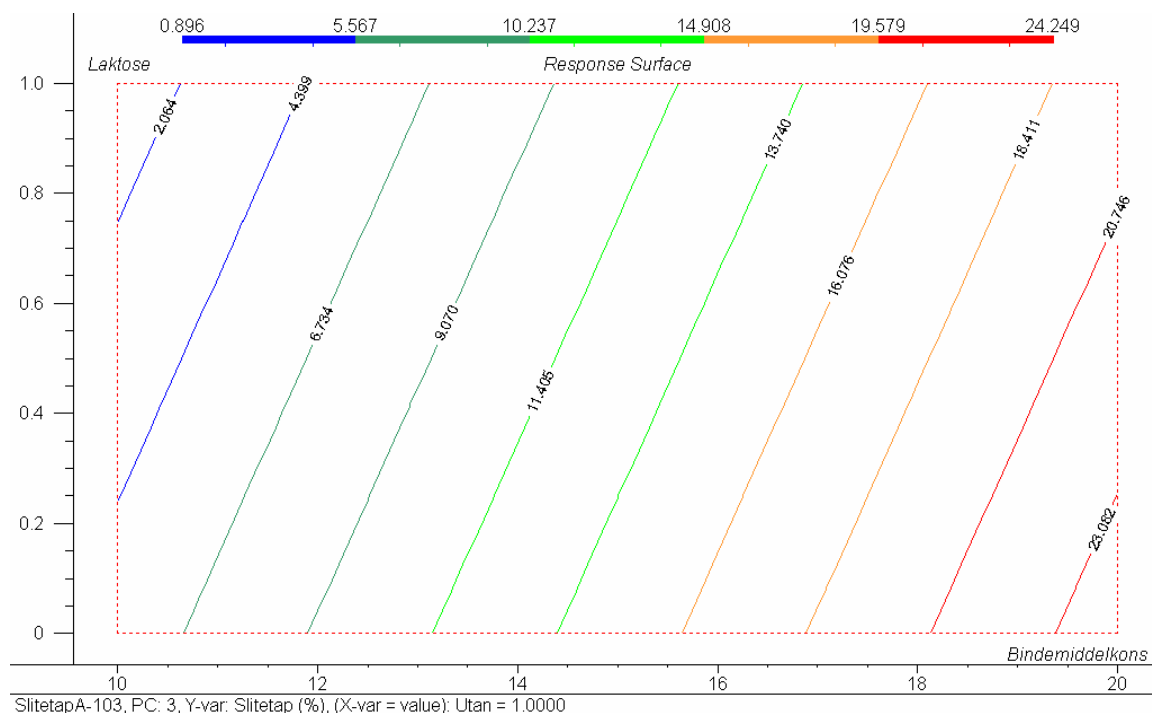
Figur 6.6 Slitetap versus brotstyrke for aktuelle forsøk

PLS1-resultata for responsen slitetap, er vist i figur 6.7. Oversiktsplott av modellen er vist i vedlegg 5. Forsøk 103 vart fjerna frå modellen, då det under modelleringa kom fram at dette forsøket var ein mogleg outlier. Vidare vart modelleringa utført som beskrive under 5.2.1.

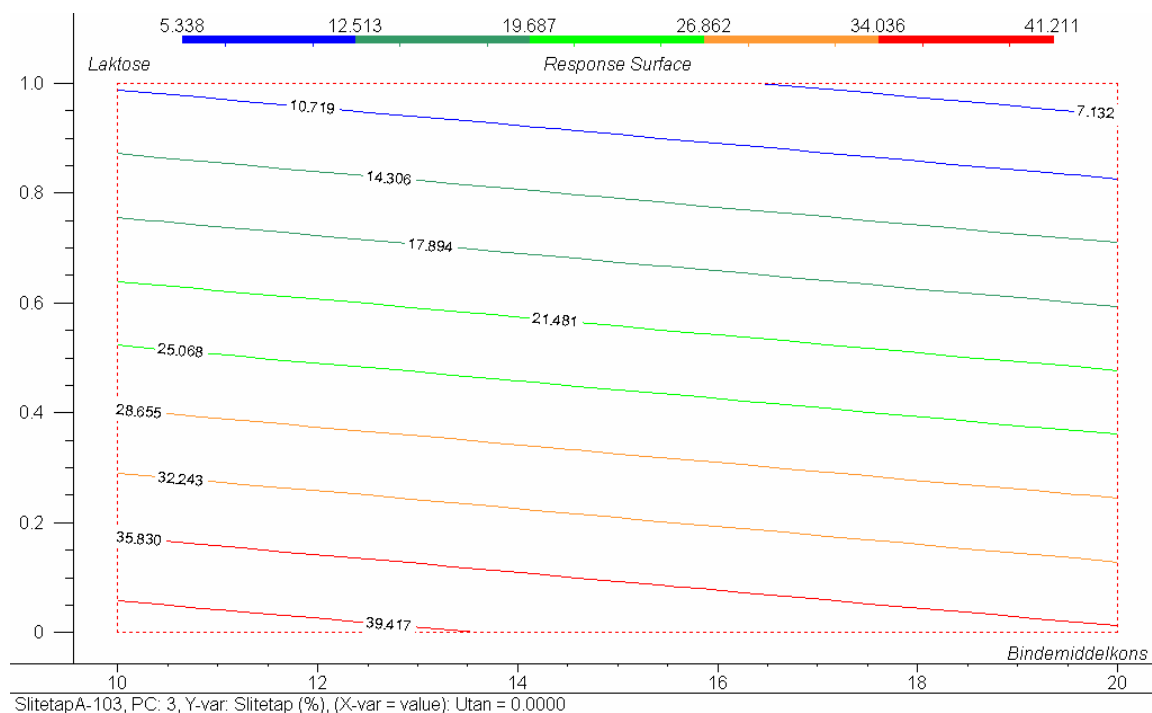


Figur 6.7 Regresjonskoeffisientar for responsen slitetap. Forsøk 103 er ekskludert.

Frå regresjonskoeffisientplottet i figur 6.7, ser ein at for responsen slitetap er hovudeffektane utan disintegrant, og laktose signifikante. Vidare er samspelseffektane bindemiddelkonsentrasjon * utan og utan * laktose signifikante. Hovudeffekten bindemiddelkonsentrasjon er ikkje fjerna, sjølv om den er ikkje-signifikant, fordi den inngår i eit signifikant samspel. Effekten av dei signifikante samspela når henholdsvis disintegranten uteblir og disintegranten er med, er vist i figur 6.8 og 6.9.



Figur 6.8 Responsflate for bindemiddelkonsentrasjon og laktose når disintegranten ikkje inngår i formuleringa



Figur 6.9 Responsflate for bindemiddelkonsentrasjon og laktose når disintegranten er med i formuleringa

Responsflata i figur 6.8 viser at når disintegranten ikkje inngår i formuleringa, vil det vere gunstig med låg bindemiddelkonsentrasjon (10 %) og høgt nivå av laktose, dvs. 75 % og 100 %. Når disintegranten er med i formuleringa (figur 6.9), viser responsflata at det vil vere gunstig med høg bindemiddelkonsentrasjon (20 %) og høgt nivå av laktose (75 % eller 100 %).

Ut frå modellen kan eit granulat med lågt slitetap oppnåast ved:

- Utan tilsetjing av disintegrant
- Låg bindemiddelkonsentrasjon (10 %)
- Høgt nivå av laktose, dvs. 75 % eller 100 %

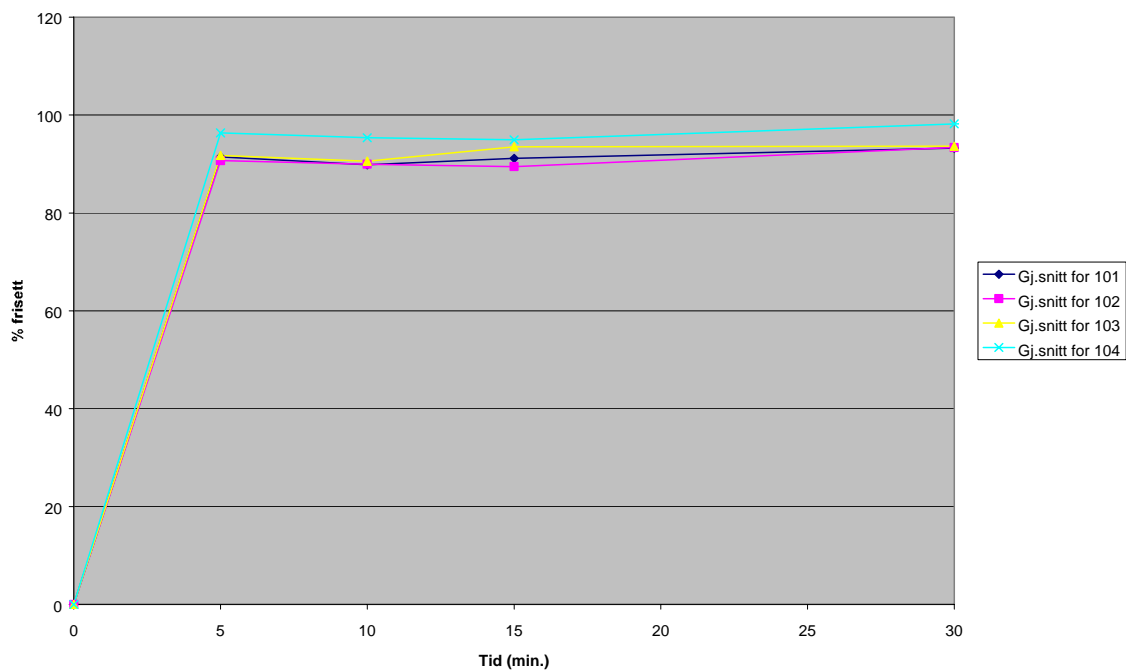
6.3 Frisetjing

Det vart målt frisetjingshastigheit på ucoata granulat i forsøk 101-104, i samsvar med 4.3.13. Granulatet i forsøk 101 innan storleiksfordelinga 1.0-1.7 mm, vart coata i 15, 30 og 60 minutt. Coatinga fungerte bra på granulatet. Seinare vart frisetjingshastigheita målt, som beskrive under 4.3.13. I tabell 6.6 er vekt av 200 granulat-korn, vektauking, mengd granulat til frisetjing og lagtid for granulat med og utan coating vist.

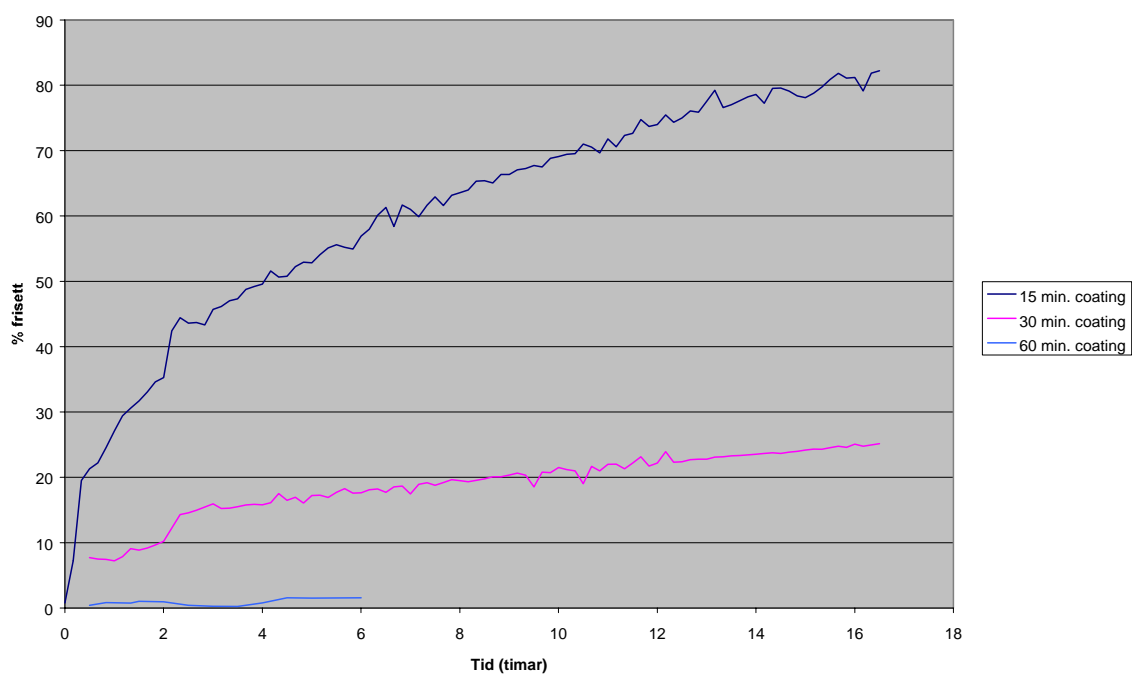
Tabell 6.6 Vekt av 200 granulat-korn, vektauking, mengd granulat til frisetjing og lagtid for ucoata granulat og granulat coata i 15, 30 og 60 minutt

	Vekt av 200 granulat-korn (g)	Vektauking (%)	Mengd granulat til frisetjing (g)	T_{lagtid} (timar)
Ucoata granulat	0.1730	-	-	0
Granulat coata 15 min.	0.1928	11.4	0.223	0
Granulat coata 30 min.	0.2097	21.2	0.242	0
Granulat coata 60 min.	0.2571	48.6	0.297	6.0

Resultata frå den gjennomsnittlege frisetjinga av riboflavin i granulata i forsøk 101-104 er vist i figur 6.10. Frisetjingsprofilane til det coata granulatet, er vist i figur 6.11.



Figur 6.10 Gjennomsnittleg frisetjingsprofil for ucoata granulat i forsøk 101-104



Figur 6.11 Frisetjingsprofilane for granulatet i forsøk 101 coata i 15, 30 og 60 minutt i % av total mengde virkestoff

7 DISKUSJON

7.1 Granulat med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska

Granulatet med gelatin som bindemiddel i granuleringsvæska hadde ikkje mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed. Det vart først antatt at hardheita til granulatet, dvs. å måle brotstyrken, ville vere ein eigna parameter for den mekaniske styrken. Resultata viser at brotstyrken auka drastisk når gelatinkonsentrasjonen vart auka frå 4 % til 8 %. Når meir bindemiddel vert tilsett, vil dei ulike partiklane hengje fastare saman, og såleis vil brotstyrken auke. Ved tilsetjing av granuleringsvæska såg det ikkje ut som fukteeigenskapane til 8 %-løysningen vart dårlegare, til tross for ein liten auke i viskositeten. Dette kan forklare kvifor forbruket av granuleringsvæske var relativt likt mellom 4 %- og 8 %-løysningen. Brotstyrken var også litt mindre for storleiksfordelinga 1.0-1.7 mm enn for 0.7-1.0 mm. Det finst inga direkte forklaring på dette, men sidan brotstyrken berre vart målt på ti tilfeldige granulat Korn, kan det tenkjast at utvalet av granulat Korn enten har representert det nedre sjiktet i storleiksfordelinga 1.0-1.7 mm, eller det øvre sjiktet i storleiksfordelinga 0.7-1.0 mm.

Ut frå målingane av brotstyrken, var det naturleg å anta at granulatet med 8 % gelatin i granuleringsvæska, ville ha tilstrekkelege mekaniske eigenskapar til å tåle coating i fluid bed. Ved å teste granulatet i fluid bed, vart det registrert at dette ikkje var tilfelle. Granulatet viste eit betydeleg slitetap. Brotstyrken var difor ikkje ein eigna parameter for den mekaniske styrken. Ut frå dette vart det beslutta å måle slitetapet som beskrive under 4.3.7.

Slitetapet for granulatet med 8 % gelatin i granuleringsvæska, var for høgt til at granulatet seinare kunne bli coata i fluid bed. Store delar av granulatet vart knust til pulver. Også det å gni nokre få granulat Korn mellom fingrane, førte til at granulatet vart øydelagt. Dette viste at granulatet var svært sprøtt, til tross for at storleiksfordelinga ikkje indikerte at granulatet var for tørt. Størstedelen av granulat Korn låg innanfor den ynskte fraksjonen 1.0-1.7 mm. Eigenskapane til dette granulatet, kan minne om eigenskapane til glas. Brotstyrken er høg, men eigentleg er

materiallet sprøtt. Når glas knuser, vert det knust i mange bitar, og i enkelte tilfelle kan det bli pulverisert.

Tabell 6.2 viser ein liten skilnad i slitetapet for granulatet med 8 % gelatin i granuleringsvæska. Dette viser at reproduserbarheita til metoden ikkje var optimal, men den vart likevel rekna som akseptabel. Slitetapet kan dermed vere ein aktuell parameter for måling av den mekaniske styrken til eit granulat.

7.2 Granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Det vart utvikla eit granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska, som hadde mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed.

7.2.1 Screening

Under screeninga kom det fram at brotstyrken til pellets var i overkant av fire gongar større, enn gjennomsnittet av brotstyrken til granulatet innan storleiksfordelinga 0.7-1.0 mm. For fraksjonen 1.0-1.7 mm, var brotstyrken til pellets i underkant av fire gongar større enn gjennomsnittet av brotstyrken til granulatet. Pellets var altså hardare enn granulatet. Dette kan nok forklarast ut frå ulik framstillingsmåte. Pelletane var framstilt ved hjelp av ekstrudering og sfæronisering. Dette er prosessar der massen må ha plastiske eigenskapar slik at den kan bli pressa godt saman og lage eit ekstrudat, som seinare vert kutta opp til pellets ved hjelp av ein sfæronizer. Granulatet vart laga på tradisjonelt vis som beskrive under 4.3.3, og det er sannsynleg at komprimeringa vert dårlegare når ein må bruke handmakt i staden for ei maskin for å presse massen gjennom ei sikt. Bruk av granulator ville nok gitt granulat med høgare brotstyrke.

Resultata vart analysert ved hjelp av PLS1 på responsen brotstyrke 1.0-1.7 mm. At det berre vart modellert på denne storleiksfordelinga, skuldast at det var denne fraksjonen som seinare var aktuell for coating. Granulatkorner innan fraksjonen 0.7-1.0 mm verka små og upraktiske for coating. To modellar, modell 1 og 2, vart tatt med under 6.2.1 for å begrunne vala i fullfaktordesignet (sjå tabell 6.4).

Låg bindemiddelkonsentrasjon har vore signifikant både i modell 1 og 2. Under tillaginga av granuleringsvæska vart det observert at HPMC swelte kraftig, og at "løysningen" bestod av ei swelling som var kvit og uklar. Det var i tillegg stor skilnad i viskositet mellom 10 %- og 20 % løysningen. Granuleringsvæska med 10 % HPMC var relativt tyntflytande, og verka å fukte pulverblandinga tilfredsstillande. "Løysningen" med 20 % HPMC hadde høgare viskositet, og såg ut til å ha dårlegare fukteevne. Dette kan vere ei forklaring på kvifor låg bindemiddelkonsentrasjon gjev høgst brotstyrke. Normalt ville ein ha forventa høgare brotstyrke med høgare bindemiddelkonsentrasjon, slik som beskrive for granulat med gelatin som bindemiddel.

Både i modell 1 og 2, har natriumstivelsesglykolat (SSG) komme ut som signifikant med eit negativt teikn på regresjonskoeffisienten. Sidan SSG har inngått som eitt nivå i ein kategorisk variabel, tyder dette at for å oppnå eit granulat med høg brotstyrke må disintegranten SSG ikkje inngå i granulatet. Årsaka til dette er ukjent.

I modell 1 har også regresjonskoeffisienten stivelse vore signifikant. Eit lågt nivå av stivelse, dvs. at stivelse utgjer maksimalt 25 % av den totale pulvermengda minus virkestoffet, vil i følge modellen gje eit granulat med høg brotstyrke. I formuleringa har stivelse inngått som eit fyllstoff. Stivelse kan også fungere som eit bindemiddel når det er oppslemma i vatn og inngår i konsentrasjonen 5-25 % [48]. Sjølv om stivelse ikkje inngår som eit bindemiddel i formuleringa, men føreligg som eit tørrstoff, kan det tenkjast at stivelse kan ha svak verknad som eit bindemiddel når HPMC-"løysningen" vert tilsett, og såleis kan vere med på å auke brotstyrken.

7.2.2 Fullfaktordesign

Brotstyrken for storleiksfordeling 1.0-1.7 mm var høgst for forsøk 101. Dette granulatet inneheldt berre riboflavin og laktose. Ingen disintegrant var tilsett, og bindemiddelkonsentrasjonen var låg, dvs. 10 % (sjå tabell 6.4). Mykje laktose i granulatet ser dermed ut til å gje granulat med nokolunde høg brotstyrke. Det må likevel kommenterast at denne brotstyrken er relativt låg samanlikna med pellets og forsøk utført under screeninga. Granulatet i forsøk 101 har ein brotstyrke som berre utgjer i underkant av 40 % av tilsvarande brotstyrke til pellets.

Granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska, verka å vere plastiske og mjuke. Dei var ikkje sprø, slik tilfellet var for granulatet under 7.1. Ein byrja å fatte mistanke om at brotstyrken kanskje ikkje var ein eigna parameter for den mekaniske styrken til desse granulata.

7.2.3 Måling av slitetap

Det vart bestemt å måle slitetapet til granulatet. Resultata vart samanlikna med brotstyrken for granulata i dei aktuelle forsøka. Det var dårleg korrelasjon mellom slitetap og brotstyrke. Dette bekrefta mistanken om at brotstyrken ikkje var ein eigna parameter for den mekaniske styrken. På bakgrunn av dette, vart det modellert på resultata i tabell 6.5, med slitetap som ny respons.

I PLS1 modellen for responsen slitetap (sjå figur 6.7 og vedlegg 5), har regresjonskoeffisientane utan disintegrant, og laktose vore signifikante. Ingen disintegrant og eit høgt nivå av laktose i formuleringa, vil i følgje modellen gje eit granulat med lågt slitetap. Under granuleringa vart det observert at granulat som inneheldt laktose laga ein fastare masse enn pulverblandingar innehaldande mykje MCC, sjølv når optimal mengd granuleringsvæske var tilsett. Granulat med MCC såg også ut til å vere meir porøse/luftige enn granulat med laktose og stivelse som basis. Dette kan vere med å forklare kvifor mykje laktose i formuleringa ser ut til å gje granulat med lågt slitetap. Det finst inga nærliggjande forklaring på kvifor slitetapet vil vere lågt, når formuleringa manglar ein disintegrant.

Frå figur 6.8 som viser effekten av bindemiddelkonsentrasjon og laktose når ingen disintegrant er med, kjem det fram at låg bindemiddelkonsentrasjon (10 %) og høgt nivå av laktose (75 % eller 100 %), vil vere gunstig. Låg bindemiddelkonsentrasjon vil som tidlegare nemnt, ha betre fukteevne enn tilsetjing av 20 % HPMC-løysning, og kan såleis bidra til ei meir gjennomfukta pulverblanding med evne til å lage faste og tette granulat. Dette kan vere ei mogleg forklaring på kvifor låg bindemiddelkonsentrasjon ser ut til å gje eit lågt slitetap. At høgt nivå av laktose kan vere gunstig, er forklart ovanfor.

Når ein disintegrant er med i formuleringa, viser responsflata (sjå figur 6.9) at høg bindemiddelkonsentrasjon (20 %) og høgt nivå av laktose (75 % og 100 %), vil vere gunstig for å oppnå lågt slitetap. Årsaka til dette er ukjent.

7.3 Frisetjing

Granulatet i forsøk 101 vart coata i fluid bed, fordi dette granulatet hadde lågast slitetap. Granulatet hadde mekanisk styrke til å tåle coatingprosessen. Dette viser at slitetapet er ein eigna parameter for måling av mekanisk styrken.

Frisetjingsprofilen for ucoata granulat i forsøk 101-104, viser at om lag 90 % av virkestoffet vart friset innan fem minutt, dvs. tida for fullstendig frisetjing,

$T_{90\%} = 5$ minutt. Dette viser at granulatet i forsøk 101 har ei rask frisetjing av virkestoffet, noko som var ynskjeleg.

Det vart ikkje oppnådd ei tidskontrollert frisetjing med tre timar lagtid etterfølgt av tre timar lineær frisetjing av virkestoffet. I følgje produsenten [47], skal Eudragit® RS 30D først gje ei lagtid, etterfølgt av lineær frisetjing. Vatn vil trengje inn, slik at coatinga til slutt sprekk. Dette er ulikt andre akrylatderivat, der det skjer ei diffusjonskontrollert frisetjing av virkestoffet. Slike filmar vil tillate vatn å penetrere inn i filmen og løyse opp virkestoffet, for deretter å la virkestoffet diffundere ut [31]. Eudragit® RS 30D vert også klassifisert som ein pH-uavhengig polymer [28].

Frisetjingsprofilen til granulatet coata i 15 minutt, viser at inga lagtid vart oppnådd. Virkestoffet (riboflavin) vart heller ikkje friset lineært. Det kan verke som det skjer ei diffusjonskontrollert frisetjing av virkestoffet.

For granulatet coata i 30 minutt, var det heller inga lagtid. Sidan det har blitt lagt på eit tjukkare coatinglag, vil diffusjonsvegen for riboflavin bli lengre. I tillegg kan det tenkjast at mindre væske har klart å trengje gjennom det tjukke coatinglaget, slik at mindre riboflavin har blitt oppløyst. Dette kan vere moglege forklaringar på kvifor frisetjingshastigheita er låg.

Granulatet coata i 60 minutt har ei lagtid på minst 6 timar. Fleire målingar utover 6 timar måtte ha blitt utført for å finne ut om lagtida verkeleg var 6 timar eller om den var lengre. Uansett er lagtida for lang, då den i utgangspunktet skulle vere tre timar. Den lange lagtida skuldast at for mykje coating har blitt lagt på granulatkorna. Det kan tenkjast at eit tjukt coatinglag kan bremse opp eller fange virkestoffet i coatinga, slik at det går lang tid før virkestoffet slepp ut.

Coatinga ser også ut til å vere pH-uavhengig, slik produsenten oppgav.

For at ei lagtid på tre timar etterfølgt av tre timar lineær frisetjing skal kunne oppnåast, må fluid bed parametranne innstillast meir nøyaktig, og fleire *in vitro* frisetjingar må utførast. I tillegg bør det prøvast å tilsetje ein disintegrant til granulatet i forsøk 101, slik at coatinga sprekk raskare. Dette vil kunne auke frisetjingshastigheita.

8 KONKLUSJON

Det vart laga eit granulat som hadde mekanisk styrke til å tåle coating i fluid bed. Dette granulatet bestod av 5 % riboflavin og 95 % laktose. 10 % HPMC vart brukt som bindemiddel i granuleringsvæska. Forbruket av granuleringsvæske var 20.5 %.

Slitetap i fluid bed var ein eigna parameter å måle på, for å finne eit granulat med høg mekanisk styrke. Måling av brotstyrken viste seg å vere lite eigna til dette føremålet. Det var ingen samanheng mellom slitetap og brotstyrke.

Etter fem minutt, hadde om lag 90 % av riboflavinet blitt frisettt frå det ucoata granulatet. Dette viste at kjernane eller granulatkorna ikkje var for harde, slik tilfellet ofte er for pellets.

Granulatet vart også coata, men det vart ikkje oppnådd ei tidskontrollert frisetjing med tre timar lagtid etterfølgt av tre timar lineær frisetjing (0.ordens frisetjing). Frisetjingsprofilane viste at enten vart det ikkje oppnådd noko lagtid, eller så var lagtida minst 6 timar. Frisetjingshastigheita var for låg, og var i tillegg var frisetjinga ikkje-lineær. Dette viser at coatingprosessen må optimaliserast. Fluid bed parametranne må bli grundig undersøkt og fleire *in vitro* frisetjingar må utførast, slik at ein veit kor mykje coating som skal leggjast på granulatkorna for at målsetjinga om tre timar lagtid etterfølgt av 0.ordens frisetjing i tre timar, skal bli innfridd. Coatinga var pH-uavhengig.

9 REFERANSELISTE

- [1] Bergseng, E., Formulering av et hydrokortisonpreparat med tids-kontrollert frisetting, Universitetet i Oslo, Farmasøytisk institutt, Oslo, (2002), s.1-85
- [2] Norske legemiddelstandarder 2000, Statens legemiddelkontroll og Gyldendal Akademisk AS, Oslo, (2000), s.177-180.
- [3] European Pharmacopoeia, Dissolution test for solid dosage forms, Council of Europe, (2002), s.3247-3250.
- [4] Schæfer, T., Agglomerering, i Lægemiddelteknik, Institut for farmaci, Danmarks Farmaceutiske Universitet, København, Vol. 1, (2004), s.77-90.
- [5] Summers, M.P., Granulation, i Pharmaceutics. The science of dosage form design, (Aulton, M.E., red.), Churchill Livingstone, Edinburgh, (1988), s.616-628.
- [6] Sandell, E., Granulat, i Galenisk farmaci, Svensk Farmaceutisk Tidsskrifts Förlags AB, Helsingborg, Vol. 3, (1982), s.158-159.
- [7] Hausman, D.S., Comparison of low shear, high shear, and fluid bed granulation during low dose tablet process development, Drug Development and Industrial Pharmacy 30, (2004), 259-266.
- [8] Gao, J.Z.H., Jain, A., Motheram, R., Gray, D.B. og Hussain, M.A., Fluid bed granulation of a poorly water soluble, low density, micronized drug: comparison with high shear granulation, International Journal of Pharmaceutics 237, (2002), 1-14.
- [9] Fokkens, J.G., Pellets and multi-unit dosage forms: state of the art, i Drug targeting and delivery concepts in dosage form design, (Junginger, H.E., red.), Ellis Horwood, New York Vol. 1, (1992), s.101-112.
- [10] Rudnic, E.M. og Schwartz, J.D., Oral solid dosage form, i Remington: The science and practice of pharmacy, (Gennaro, A.R., red.), Lippincott Williams & Wilkins, Easton, Pennsylvania Vol. 20, (2000), s.865-869.
- [11] Chien, Y.W., Oral drug delivery and delivery systems, i Novel drug delivery systems, (Chien, Y.W., red.), Marcel Dekker, New York, (1992), s.139-196.
- [12] Wilson, C., Washington, C. og Washington, N., The stomach: its role in oral drug delivery, i Physiological pharmaceutics: biological barriers to drug

- absorption, (Wilson, C.G. og Washington, N., red.), Ellis Horwood Limited, New York, (1989), s.47-70.
- [13] Wilson, C., Washington, C. og Washington, N., Small intestine: transit and absorption of drugs, i *Physiological pharmaceuticals: biological barriers to drug absorption*, (Wilson, C.G. og Washington, N., red.), Ellis Horwood Limited, New York, (1989), s.71-90.
- [14] Steed, K.P., Wilson, C.G. og Washington, N., Drug delivery to the large intestine, i *Physiological pharmaceuticals: biological barriers to drug absorption*, (Wilson, C.G. and Washington, N., red.), Ellis Horwood Limited, New York, (1989), s.91-108.
- [15] Moës, A.J., Gastroretentive dosage forms, *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems* 10(2), (1993), 143-195.
- [16] Fischer, W., Boertz, A., Davis, S.S., Khosla, R., Cawello, W., Sandrock, K. og Cordes, G., Investigation of the Gastrointestinal Transit and In vivo Drug Release of Isosorbide-5-Nitrate Pellets, *Pharmaceutical Research* 4(6), (1987), 480-485.
- [17] Wilding, I.R., Coupe, A.J. og Davis, S.S., The role of gamma-scintigraphy in oral drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* 46, (2001), 103-124.
- [18] Kompella, U.B. og Lee, V.H.L., Delivery systems for penetration enhancement of peptide and protein drugs: design considerations, *Advanced Drug Delivery Reviews* 46, (2001), 211-245.
- [19] Kinget, R., Kalala, W., Vervoort, L. og van den Mooter, G., Review article - Colonic drug targeting, *Journal of Drug Targeting* 6, (1998), 129-149.
- [20] Ashford, M. og Fell, J.T., Targeting Drugs to the Colon - Delivery Systems for Oral-Administration, *Journal of Drug Targeting* 2, (1994), 241-257.
- [21] Schæfer, T., Overtrækning, i *Lægemedelteknik*, Institut for farmaci, Danmarks farmaceutiske universitet, København, (2004), s.129-143.
- [22] Hogan, J.E., Tablet coating, i *Pharmaceutics. The science of dosage form design.*, (Aulton, M.E., red.), Churchill livingstone, London, (1988), s.669-677.
- [23] Shelukar, S., Ho, J., Zega, J., Roland, E., Yeh, N., Quiram, D., Nole, A., Katdare, A. og Reynolds, S., Identification and characterization of factors controlling tablet coating uniformity in a Wurster coating process, *Powder Technology* 110, (2000), 29-36.

-
- [24] Lecomte, F., Siepmann, J., Walther, M., MacRae, R.J. og Bodmeier, R., Polymer blends used for the aqueous coating of solid dosage forms: importance of the type of plasticizer, *Journal of Controlled Release* 99, (2004), 1-13.
- [25] Florence, A.T. og Attwood, D., *Polymers and macromolecules, Physicochemical principles of pharmacy*, Palgrave, New York, (1998), s.308-371.
- [26] Kao, C.C., Chen, S.C. og Sheu, M.T., Lag time method to delay drug release to various sites in the gastrointestinal tract, *Journal of Controlled Release* 44, (1997), 263-270.
- [27] Kramar, A., Turk, S. og Vrecer, F., Statistical optimisation of diclofenac sustained release pellets coated with polymethacrylic films, *International Journal of Pharmaceutics* 256, (2003), 43-52.
- [28] Produktinformasjon frå Röhm, Eudragit- acrylic polymers for controlled release, s.1-19.
- [29] Zhu, Y.C., Shah, N.H., Malick, A.W., Infeld, M.H. og McGinity, J.W., Solid-state plasticization of an acrylic polymer with chlorpheniramine maleate and triethyl citrate, *International Journal of Pharmaceutics* 241, (2002), 301-310.
- [30] *The Merck Index*, (O'Neil, M.J., red.), Merck & Co. Inc., New York, (2001), s. 406.
- [31] Gandhi, R., Kaul, C.L. og Panchagnula, R., Extrusion and spheronization in the development of oral controlled-release dosage forms, *Pharmaceutical Science & Technology Today* 2, (1999), 160-170.
- [32] Rouge, N., Buri, P. og Doelker, E., Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery, *International Journal of Pharmaceutics* 136, (1996), 117-139.
- [33] Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., Introduction to experimental design, i *Multivariate data analysis - in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design*, (Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., red.), Camo, Oslo, (2002), s.361-445.
- [34] Thelin, B., Lundstedt, T., Seifert, E. og Carlson, R., Försöksplanering och optimering för experimentalisten, i *Anvendelse av kjemometri innen forskning og industri*, (Nortvedt, R., Brakstad, F., Kvalheim, O.M. og Lundstedt, T., red.), Tidsskriftforlaget Kjemi AS, (1996), s.81-106.

-
- [35] Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., Complex experimental design problems, i Multivariate data analysis - in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design, (Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., red.), Camo, Oslo, (2002), s. 447-487.
- [36] Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., Multivariate calibration (PCR/PLS), i Multivariate data analysis - in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design, (Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., red.), Camo, Oslo, (2002), s. 115-154.
- [37] Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., Validation: Mandatory performance testing, i Multivariate data analysis - in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design, (Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., red.), Camo, Oslo, (2002), s. 155-170.
- [38] Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., Principal component analysis (PCA) - introduction, i Multivariate data analysis - in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental design, (Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. og Houmøller, L.P., red.), Camo, Oslo, (2002), s.19-74.
- [39] Schroder, M. og Kleinebudde, P., Structure of Disintegrating Pellets with Regard to Fractal Geometry, *Pharmaceutical Research* 12, (1995), 1694-1700.
- [40] The United States Pharmacopoeia 2004 - USP 27 / NF 22, United States pharmacopoeial convention, Toronto, (2003), s.2305-2309.
- [41] Datablad for hydrokortison, Norsk Medisinaldepot, Oslo, (1998), s.1-5
- [42] Datablad for Riboflavin, Fisher Scientific, (2003), s.1-5
- [43] Pharmacopoea Nordica, Granulatum simplex ad tabletas, Nordisk forlag, Arnold Busck, København, Vol. 3, (1963), s.81.
- [44] Palmieri, G.F., Wehrle, P. og Stamm, A., Aqueous Acrylic Resin for Coating an Original Theophylline Granulate, *Drug Development and Industrial Pharmacy* 21, (1995), 879-888.
- [45] Handbook of pharmaceutical excipients, Croscarmellose sodium, (Wade, A. og Weller, P.J., red.), The pharmaceutical press, London, (1994), s.141-142.

- [46] Handbook of pharmaceutical excipients, Sodium starch glycolate, (Wade, A. og Weller, P.J., red.), The pharmaceutical press, London, (1994), s.462-466.
- [47] Produktinformasjon frå Röhm, Pulsed drug release with Eudragit RS 30D, (1998), s.1-6.
- [48] Handbook of pharmaceutical excipients, Starch, (Wade, A. og Weller, P.J., red.), The pharmaceutical press, London, (1994), s.483-488.

10 VEDLEGG

Vedlegg 1: Forbruk av granuleringsvæske og vatn for granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Vedlegg 2: Prosentvis storleiksfordeling for granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Vedlegg 3: PLS1 modell for responsen brotstyrke (modell 1)

Vedlegg 4: PLS1 modell for responsen brotstyrke (modell 2)

Vedlegg 5: PLS1 modell for responsen slitetap

Vedlegg 1: Forbruk av granuleringsvæske og vatn for granulat med HPMC som bindemiddel i granuleringsvæska

Forsøk nr.	Forbruk gr.væske (%)	Forbruk vatn (%)	Totalt forbruk (%)
1	50	38.7	88.7
2	50	42.8	92.8
3	50	5.8	55.8
4	50	18.6	68.6
5	50	28.5	78.5
6	50	47.9	97.9
7	50	29.6	79.6
8	50	30.7	80.7
9	50	0	50
10	50	10.8	60.8
11	50	41.6	91.6
12	50	18.4	68.4
13	50	19.6	69.6
14	50	22	72
15	50	0	50
16	50	4.1	54.1
17	50	5.7	55.7
18	50	23.4	73.4
19	50	11.1	61.1
20	50	11.8	61.8
21	50	24.6	74.6
22	50	20.4	70.4
23	50	0	50
101	20.5	0	20.5
102	50.1	6.8	56.9
103	29.5	0	29.5
104	47	0	47

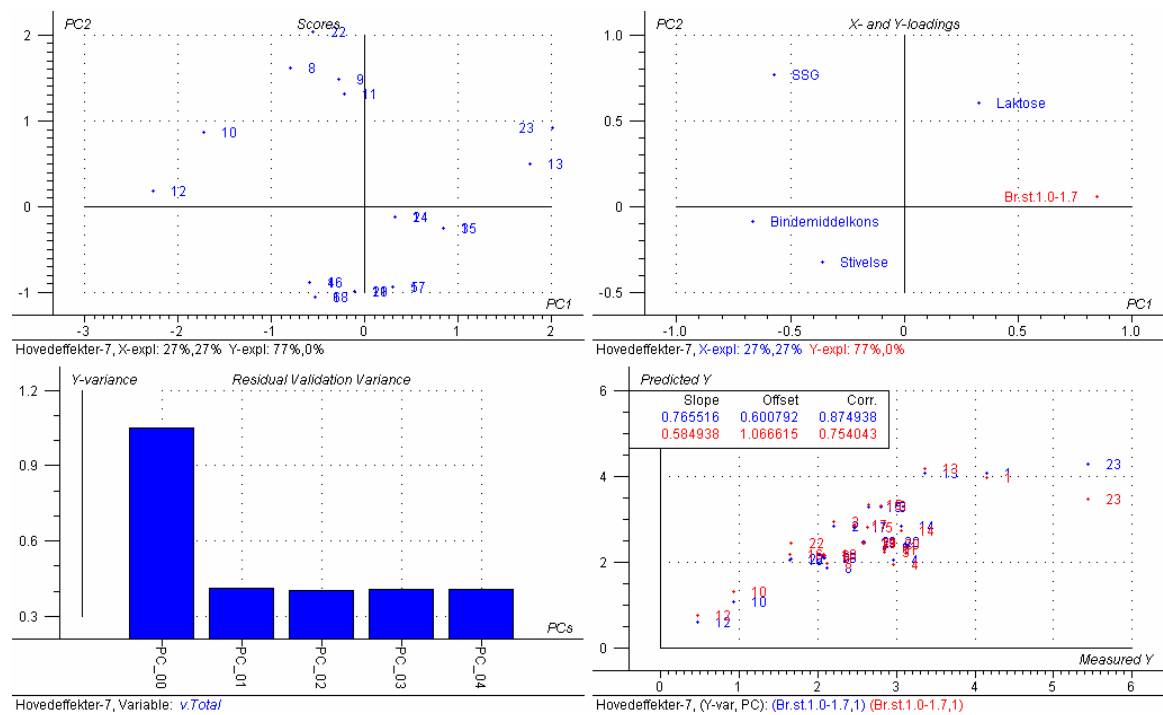
**Vedlegg 2: Prosentvis storleksfordeling for granulat med HPMC
som bindemiddel i granuleringsvæska**

Forklaringar:

A: < 0.15 mm, B: 0.15-0.3 mm, C: 0.3-0.5 mm, D: 0.5-0.7 mm, E: 0.7-1.0 mm, F: 1.0-1.7 mm,
G: 1.7-2.4 mm og H: > 2.4 mm

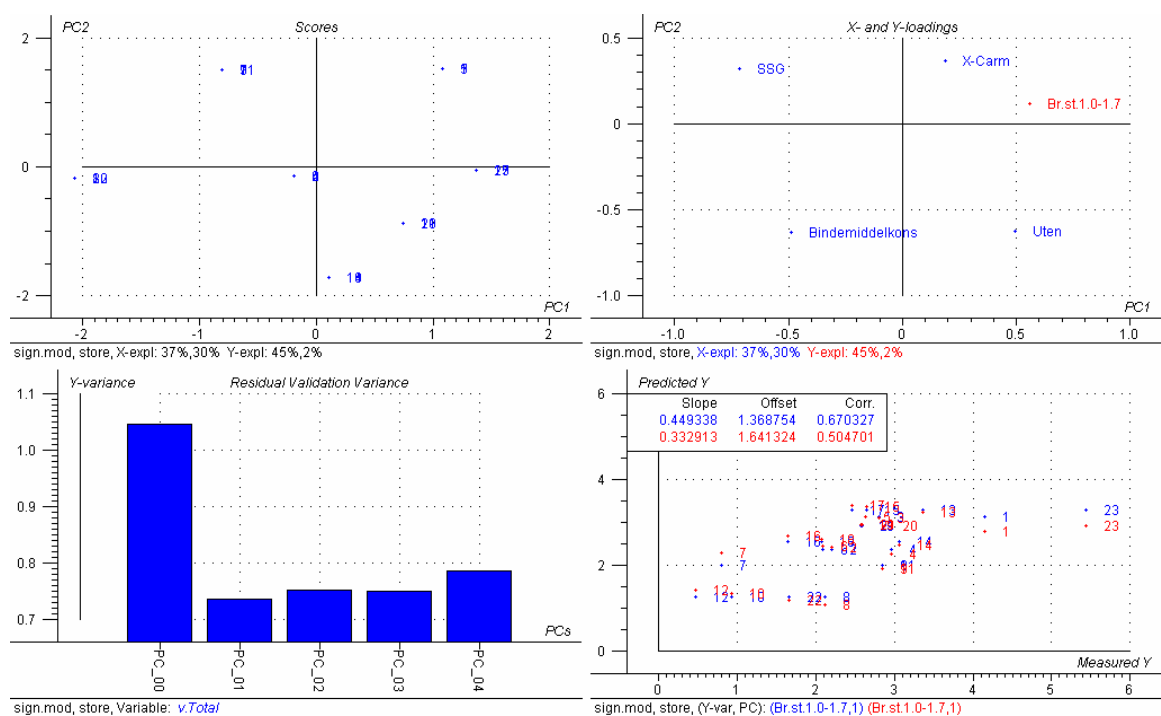
Forsøk nr.	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	E (%)	F (%)	G (%)	H (%)
1	2.44	23.5	25.4	24.9	17.1	6.61	0	0
2	9.49	19.9	22.2	20.5	17.5	10.5	0	0
3	7.86	20.1	34.8	18.7	13.1	5.41	0	0
4	8.13	17.5	20.8	18.7	23.3	11.6	0	0
5	10.2	22.6	21.3	18.4	18.7	8.83	0	0
6	13.3	20.8	19	18.9	16.6	11.5	0	0
7	0.48	2.43	12.3	25.5	29.8	29.4	0.03	0
8	0.88	5.67	21.3	31.5	26	14.7	0	0
9	6.59	19.2	32.9	22.5	15.4	3.35	0	0
10	1.71	7.96	21.2	27.6	20.6	20.8	0.06	0
11	0.14	4.87	22.7	36.8	27.5	7.95	0	0
12	3.59	9.53	22.4	28.2	21.3	15	0	0
13	2.3	10.8	26.9	35.2	21.5	3.35	0	0
14	3.67	10.5	29.8	33	18.8	4.14	0	0
15	0.92	1.42	4.12	8.38	19.3	65.6	0.21	0
16	7.42	15.4	25.9	22	16.9	12.4	0	0
17	9.58	27.8	30.1	19.3	12.1	1.09	0	0
18	12.8	14.5	23.8	24.6	17.2	7.12	0	0
19	6.74	25.7	30.9	17.8	11.6	7.27	0	0
20	24.6	17	21.5	18.8	14.8	3.29	0	0
21	1.17	6.75	19.1	25.4	18.8	28.8	0.05	0
22	3.11	7.56	18.8	29.5	19.6	21.4	0	0
23	0.79	2.18	8.91	18.3	18.8	51.1	0	0
101	0.86	2.12	5.43	8.78	16.1	64.1	2.62	0
102	1.29	1.51	4.12	8.34	13.8	65.7	5.27	0
103	1.87	3.22	11.3	17.1	22.6	43.8	0.07	0
104	1.35	1.35	3.25	6.97	13	67	7.03	0

Vedlegg 3: PLS1 modell for responsen brotstyrke (modell 1)

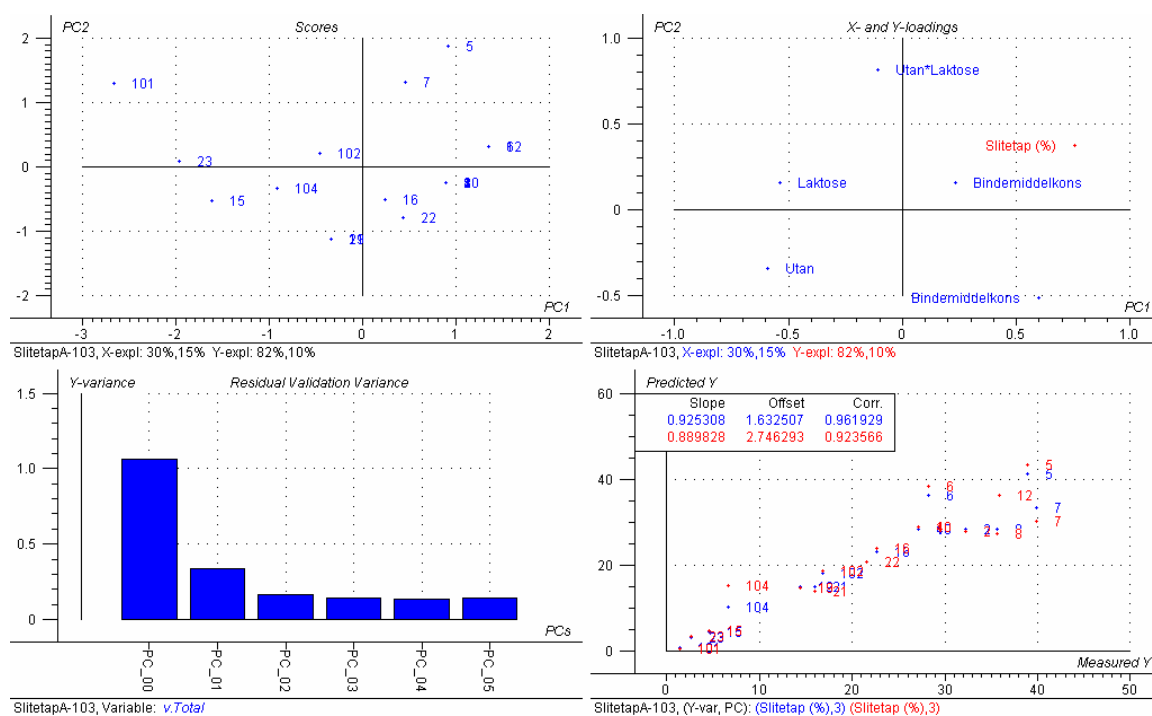


Forsøk 7 var ein mogleg outlier, og vart fjerna.

Vedlegg 4: PLS1 modell for responsen brotstyrke (modell 2)



Vedlegg 5: PLS1 modell for responsen slitetap



Forsøk 103 var ein mogleg outlier, og vart fjerna.